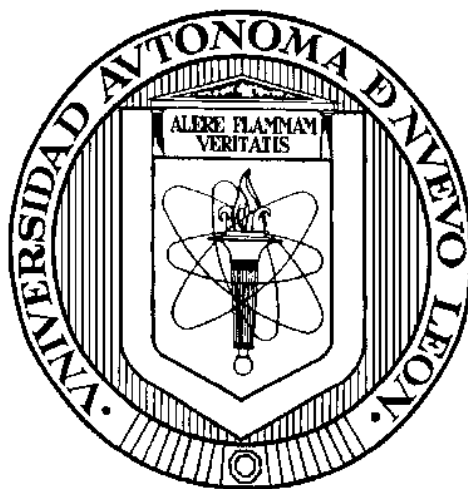


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



**BEBIDA A BASE DE MAÍZ MORADO (ZEAMAYS) COMPUESTOS  
BIOACTIVOS Y EFECTO ANTIOXIDANTE EN UN MODELO *IN VIVO***

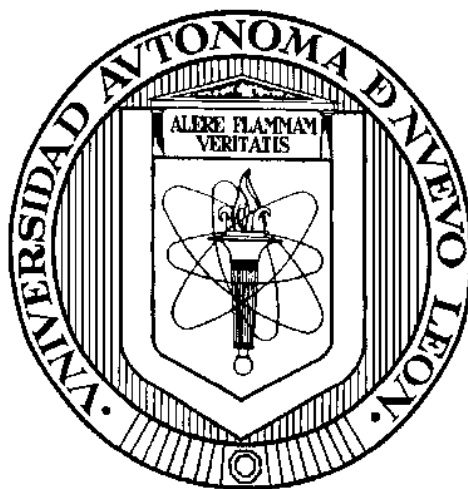
**POR**

**LCA. MARÍA CATALINA HERNÁNDEZ TREJO**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO  
DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**JUNIO, 2021**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



**BEBIDA A BASE DE MAÍZ MORADO (ZEAMAYS) COMPUESTOS  
BIOACTIVOS Y EFECTO ANTIOXIDANTE EN UN MODELO *IN VIVO***

**POR**

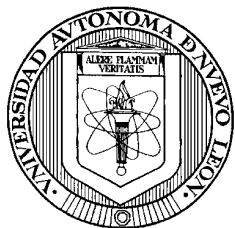
**LCA. MARÍA CATALINA HERNÁNDEZ TREJO**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO  
DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

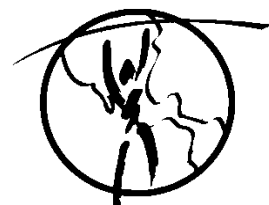
**DIRECTOR DE TESIS  
DRA.VANIA URÍAS ORONA**

**CO-DIRECTOR  
DR. GUILLERMO NIÑO MEDINA**

**JUNIO, 2021**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**  
**SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y POSGRADO**



**TESIS**

**BEBIDA A BASE DE MAÍZ MORADO (ZEAMAYS) COMPUESTOS  
BIOACTIVOS Y EFECTO ANTIOXIDANTE EN UN MODELO *IN VIVO***

**POR**

**LCA. MARÍA CATALINA HERNÁNDEZ TREJO**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO  
DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**DIRECTOR DE TESIS  
DRA. VANIA URÍAS ORONA**

**CO-DIRECTOR  
DR. GUILLERMO NIÑO MEDINA**

**MONTERREY, NUEVO LEÓN, MÉXICO**

**JUNIO, 2021**



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FaSPyN

Facultad de Salud Pública y Nutrición

Monterrey, N.L. 13 de Noviembre del 2020

**Dra. Blanca Edelia González Martínez**  
Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado  
Facultad de Salud Pública y Nutrición  
**PRESENTE.**

Estimada Dra. González Martínez, por medio de la presente me dirijo a usted para comunicarle que la tesis de la estudiante Lic. Maria Catalina Hernández Trejo titulada **"Bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) compuestos bioactivos y efecto antioxidante en un modelo *in vivo*"** ha concluido, por lo que solicito amablemente, el dar inicio con el proceso de tramites académicos y administrativos, con la finalidad de obtener el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición.

A su vez, informar que este proyecto lleva como **CoDirector** al Dr. Guillermo Niño Medina y como **Asesora** a la Dra. Ana Laura Isabel de la Garza Hernández.

Sin otro particular por el momento, me despido y envío un cordial saludo.

**Atentamente,**  
*"Alere Flammam Veritatis"*

**Dra. Vanía Urias Orona**  
Directora de la Tesis  
Profesor de tiempo completo titular A

c.c.p. MSP, Nohemi Liliana Negrete López  
Secretaria Académica de Posgrado





UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FaSPyN

Facultad de Salud Pública y Nutrición

Monterrey, N.L. 05 de Marzo del 2021

**Dra. Blanca Edelia González Martínez**  
Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado  
Facultad de Salud Pública y Nutrición  
PRESENTE.

Estimada Dra. González Martínez, me permito comunicar a usted que se han realizado las modificaciones pertinentes a la tesis titulada **"Bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) compuestos bioactivos y efecto antioxidante en un modelo *in vivo*"** que previamente los revisores han sugerido.

Presentada por: **Maria Catalina Hernández Trejo**

Con la finalidad de obtener el grado de **Maestría en Ciencias en Nutrición**.

Sin otro particular por el momento, aprovecho para enviarle un cordial saludo.

Atentamente,  
*"Aere Flammam Ventatis"*

Vania Orona Vania

**Dra. Vania Urias Orona**  
Profesor de Tiempo Completo  
Facultad de Salud Pública y Nutrición  
Directora de Tesis



Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de  
Salud Pública y Nutrición, Avenida Dr. Eduardo  
Aguirre Pequeño y Yurina, Col. Mitras Centro,  
Monterrey, N.L., México, C.P. 64000, Tel. 1340-4800.

## **DEDICATORIA**

A Dios, por darme la oportunidad de cerrar esta etapa con este proyecto,  
A mis papás y a mi hermana, por su apoyo incondicional en todo momento,  
A mis profesores por guiarme durante todo este trayecto.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia por estar conmigo en todo momento, gracias por ser la columna más firme durante toda mi vida y sobre todo, en esta etapa.

A Karla, mi compañera de vida, la mejor consejera, mi ejemplo a seguir.

A mi directora, Dra. Vania Urías Orona, director externo Dr. Guillermo Niño y asesora Dra. Ana Laura, gracias a todos ellos por ser una excelente guía, por abrir puertas cuando se creía que ya no había más opciones, por sus sabios consejos y su ayuda incondicional en todo momento y, sobre todo, por depositar su confianza en mí para permitirme realizar este proyecto, gracias infinitas.

Bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) compuestos bioactivos y efecto antioxidante en un modelo *in vivo*.

Comité de evaluación de Tesis

---

Dra. Ana Laura de la Garza Hernández  
Presidente

---

Dra. Vania Urías Orona  
Secretario

---

Dr. Guillermo Niño Medina  
Vocal



Bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) compuestos bioactivos y efecto antioxidante en un modelo *in vivo*.

Integrantes del jurado

---

Dra. Vania Urías Orona

Presidente

---

Ana Laura de la Garza Hernández

Secretario

---

Guillermo Niño Medina

Vocal

## Contenido

1. RESUMEN .....	1
2. ABSTRACT .....	4
3. ANTECEDENTES .....	6
3.1. Bebidas procesadas .....	6
3.1.1 Composición y efectos en la salud .....	8
3.1.2 Estrés oxidativo y su asociación con patologías crónicas .....	10
3.1.3 LDL-ox.....	11
3.1.4 F2-Isoprostano .....	13
3.2 Bebidas funcionales.....	13
3.2.1 Té verde ( <i>Camelia sinensis</i> ) .....	15
3.2.2 Vino tinto.....	15
3.2.3 Café .....	16
3.3 Componentes bioactivos en los alimentos.....	17
3.3.1 Compuestos fenólicos .....	17
3.3.2 Clasificación .....	18
3.3.4 Propiedades antioxidantes .....	19
3.4 Maíz ( <i>Zea mays</i> ).....	20
3.4.1 Generalidades .....	20
3.4.2 Producción de maíz.....	22
3.4.3 Variedades del maíz ( <i>Zea mays</i> ).....	22
3.4.4 Composición fenólica y actividad antioxidante de las principales variedades de maíz en México.....	23
3.4.5 Fibra dietaria .....	25
3.4.6 Maíz morado como alimento funcional.....	27
3.4.7 Bebida a base de maíz morado.....	28
4. Planteamiento del problema.....	30
5. Justificación.....	31
6. Hipótesis.....	31
7. Objetivo general .....	31
8. Objetivos específicos .....	32

9. MATERIALES Y MÉTODOS .....	32
9.1 Obtención del maíz morado.....	33
9.2 Diagrama metodológico.....	33
9.3 Fase experimental I .....	34
9.3.1 Preparación de la bebida a base de maíz morado .....	34
9.3.2 Composición proximal .....	35
9.3.3 Determinación de humedad (AOAC 925.10).....	35
9.3.4 Determinación de grasa (AOAC 920.39).....	35
9.3.5 Determinación de ceniza (AOAC 923.03).....	36
9.3.6 Determinación de proteína (AOAC 960.52).....	36
9.3.7 Determinación de fibra dietaria (AOAC 991.43). ....	37
9.3.8 Fibra dietaria total .....	37
9.3.9 Fibra cruda total.....	38
9.3.11 Análisis sensorial.....	39
9.3.12 Composición fisicoquímica .....	39
9.3.13 Acidez titulable y pH (AOAC 981.12, AOAC 942.15).....	39
9.3.14 Sólidos solubles totales (AOAC 983.17).....	40
9.3.15 Color.....	40
9.3.16 Análisis microbiológico .....	40
9.3.17 Compuestos fenólicos .....	41
9.3.18 Preparación de extracto libre .....	41
9.3.19 Preparación de extracto ligado .....	41
9.3.20 Fenoles totales .....	42
9.3.21 Flavonoides .....	42
9.3.22 Taninos condensados .....	43
9.3.23 Antocianinas .....	43
9.3.24 Capacidad antioxidante .....	44
9.3.25 ABTS (ácido 3-etil-benzotiazolina-6-sulfónico) .....	44
9.3.26 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) .....	45
9.3.27 FRAP (Poder Férrico Reductor de Antioxidantes).....	45
9.4 Fase experimental fase II .....	46

9.4.1 Cálculo de la muestra.....	46
9.4.2 Criterios de inclusión .....	46
9.4.3 Criterios de exclusión .....	46
9.4.4 Criterios de eliminación .....	47
9.4.5 Diseño del estudio fase II .....	47
9.4.6 Preparación de la muestra de sangre.....	49
9.4.7 Medición de capacidad antioxidante.....	49
9.4.8 FRAP .....	49
9.4.9 DPPH 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo .....	49
9.4.10 F2-Isoprostano (F2-IsoPs) .....	50
9.4.11 LDL-oxidada .....	50
10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	50
11. CONDICIONES DE BIOSEGURIDAD .....	51
11.1 Manejo de desechos.....	51
11.2 Objetos cortantes y punzantes .....	51
12. ÉTICA.....	52
13. RESULTADOS .....	52
13.1 Fase experimental I .....	52
13.1.1 Composición proximal .....	52
13.1.2 Análisis sensorial.....	53
13.1.3 Composición fisicoquímica .....	54
13.1.3.1 pH, acidez titulable .....	54
13.1.3.2 Sólidos solubles totales .....	54
13.1.3.3 Color .....	54
13.1.4 Análisis microbiológico .....	55
13.1.5 Compuestos fenólicos totales, libres y ligado .....	56
13.1.6 Flavonoides totales.....	58
13.1.7 Taninos condensados.....	59
13.1.8 Antocianinas .....	60
13.1.9 Capacidad antioxidante .....	61
13.2 Fase experimental II .....	65

13.2.1 Participantes.....	65
13.2.2 Capacidad antioxidante en plasma.....	66
13.2.3 Oxidación lipídica.....	70
14. DISCUSIONES.....	71
14.1 Fase experimental I .....	71
14.1.1 Composición proximal .....	71
14.1.2 pH, acidez y sólidos solubles totales .....	72
14.1.3 Color.....	73
14.1.4 Análisis microbiológico .....	74
14.1.5 Compuestos fenólicos totales.....	75
14.1.6 Flavonoides .....	77
14.1.7 Taninos condensados .....	78
14.1.8 Antocianinas.....	79
14.1.9 Capacidad antioxidante de la bebida a base de maíz morado .....	80
14.2 Fase experimental II .....	82
14.2.1 Capacidad antioxidante en plasma.....	82
14.2.2 Oxidación lipídica en plasma .....	86
14.2.2.1 LDLox .....	86
14.2.2.2 F2-Isoprostano .....	88
15 CONCLUSIONES.....	90
16 ANEXOS.....	92
16.1 Formato de evaluación sensorial por escala hedónica.....	92
16.2 Lista de alimentos no permitidos, moderados y permitidos .....	93
16.3 Menú opcional .....	94
16.4 Consentimiento informado.....	95
17. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100

## Lista de Tablas

Tabla 1.	Clasificación de las bebidas procesadas azucaradas.....	7
Tabla 2.	Contenido nutrimental en las principales bebidas consumidas en México.....	9
Tabla 3.	Clasificación de los compuestos fenólicos.....	18
Tabla 4.	Composición fenólica de 4 variedades de maíces.....	24
Tabla 5.	Principales fuentes de fibra.....	26
Tabla 6.	Composición mineral de la bebida a base de maíz morado.....	29
Tabla 7.	Composición fenólica y capacidad antioxidante de la bebida a base de maíz morado.....	29
Tabla 8.	Composición proximal (%)......	52
Tabla 9.	Composición fisicoquímica de la bebida a base de maíz morado.....	54
Tabla 10.	Color.....	55
Tabla 11.	Resultados del análisis microbiológico.....	56
Tabla 12.	Compuestos fenólicos totales.....	57
Tabla 13.	Capacidad Antioxidante Total (mmol ET/L) de la bebida a base de maíz morado durante 30 días de almacenamiento....	62
Tabla 14.	Características de los participantes.....	65
Tabla 15.	Composición fenólica libre de bebida control y bebida estudio....	66
Tabla 16.	Capacidad antioxidante plasmática postprandial por el método de FRAP expresado en (µmol ET/L) .....	67
Tabla 17.	Δ LDL-ox y Δ F2-Isoprostano tiempo 0 y 180 min después del consumo de la bebida.....	69

## Lista de Figuras

Figura 1.	Consumo de bebidas azucaradas.....	8
Figura 2.	Anillo aromático presente en compuestos fenólicos.....	17
Figura 3.	Estructura del grano de maíz.....	21
Figura 4.	Cultivos de tipos de maíz nativos del estado de Nuevo.....	23
Figura 5.	Diagrama general metodológico.....	33
Figura 6.	Diseño de estudio fase II.....	48
Figura 7.	Análisis sensorial de la bebida a base de maíz morado.....	53
Figura 8.	Porcentaje de compuesto libres o ligados.....	57
Figura 9.	A) Flavonoides totales (mg ECat/L), B) Porcentaje de flavonoides libres o ligados.....	58
Figura 10.	Taninos condensados.....	60
Figura 11.	Antocianinas.....	61
Figura 12.	Actividad atioxidante libre y ligada de la bebida a base de maíz morado por el método DPPH.....	62
Figura 13.	Actividad atioxidante libre y ligada por el método ABTS.....	64
Figura 14.	Porcentaje de actividad atioxidante libre y ligada por el método FRAP expresada en porcentaje durante 30 días de almacenamiento.....	64
Figura 15.	Perfil de respuesta antioxidante plasmático postprandial después de 180 minutos de la ingesta de la bebida control y estudio.....	68
Figura 16.	Área bajo la curva (ABC) expresada en $\mu\text{mol TE/L}$ después de 3 h de la ingesta de la bebida control y bebida estudio.....	68

## 1. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar una bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) con potencial funcional y efecto antioxidante en un modelo *in vivo*. El estudio se dividió en dos fases, en la primera fase se caracterizó la composición nutricional de la bebida a base de maíz morado mediante un análisis proximal donde se determinó: fibra cruda, carbohidratos totales, grasa, proteína y cenizas, posteriormente se determinó la composición fisicoquímica en la que se evaluaron: acidez titulable, pH, color (mediante el sistema de color CIEL-L \*a \*b c\* y h\*), se analizó la actividad microbiológica por cuenta en placa; así mismo, se evaluó la composición fenólica, flavonoides totales, taninos, antocianinas y la actividad antioxidante (fracción libre y ligada) por espectrofotometría UV visible, en una bebida a base de maíz morado por efecto del almacenamiento durante 30 días a 4°C. En la segunda fase se evaluó el efecto antioxidante postprandial de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) en 18 participantes en normo peso, los cuales se asignaron aleatoriamente, 8 voluntarios para el grupo control (bebida maíz blanco) y 10 para el grupo estudio (bebida maíz morado), se analizó la capacidad antioxidante en plasma por el método de FRAP y se cuantificaron los biomarcadores F2-Isoprostano y LDL-ox en plasma por un inmunoensayo ELISA. Los resultados de la primera fase indicaron la estabilidad a través del tiempo de la bebida: para el parámetro de pH, se observó una disminución significativa del día 0 al 8 (6.15 a 6.01), manteniéndose estable hasta el día 30, mientras que el porcentaje de acidez aumentó 0.01% del día 0 al día 4. Los sólidos solubles totales no mostraron cambios significativos durante el



almacenamiento. Mientras que el color permaneció estable a excepción de la coordenada  $a^*$  la cual indica los cambios de tonalidad rojo/verde, observándose una disminución significativa del día 0 al 4. El tratamiento de pasteurización y la temperatura de almacenaje fueron efectivos, ya que no hubo crecimiento de bacterias descomponedoras, así como la ausencia de patógenos, cumpliendo con lo establecido en la NOM-218-SSA1-2011. Los fenoles totales mostraron al día 0 un contenido de  $206.72 \pm 14.57$  mg EAG/L (40% libres y 60% ligados) aumentando hasta un 27% al día 30 de almacenamiento, los flavonoides totales disminuyeron 24.82% del día 0 al día 4, observándose un aumento de flavonoides libres del 9.72% libres respecto a los ligados, los taninos condensados disminuyeron 41 % del día 0 al día 4, mientras que el contenido de antocianinas disminuyó 9% del día 0 al día 4 manteniéndose estable hasta el día 12. Finalmente, la capacidad antioxidante por los métodos de ABTS y DPPH aumentó 90.84% y 26% respectivamente del día 0 al día 4 y para el método de FRAP se observó una disminución del 7.45% en el mismo periodo. En la fase II, los resultados indicaron que el consumo de la bebida control disminuyó significativamente los niveles de capacidad antioxidante en plasma durante los primeros 120 minutos después de la ingesta de la bebida ( $p=0.044$ ), en comparación con la bebida estudio la cual no presentó cambios significativos durante 180 minutos, resultando un área bajo la curva (ABC) 4.81 veces menor en el grupo control vs el grupo estudio. Los resultados obtenidos para el LDLox en ambos grupos tuvieron una tendencia a aumentar, sin embargo, no presentó diferencia significativa. Mientras que el F2-isoprostano presentó una tendencia a aumentar en el grupo control ( $2.56 \pm 13.89$  pg/mL) con respecto al estado basal

y a disminuir en el grupo estudio ( $-0.04 \pm 10.41$  pg/mL), sin diferencia significativa entre tratamientos. Los resultados demostraron que la ingesta de la bebida a base de maíz morado mejora la capacidad antioxidante postprandial en plasma en sujetos sanos, sin presentar efecto en los marcadores LDL-ox y F2-isprostano.

## 2. ABSTRACT

The main objective of this study was to evaluate a purple corn (*Zea mays*) beverage as a potential antioxidant in healthy subjects. The study was divided into two phases, in the first phase the nutritional composition of the purple corn-based drink was characterized through a proximal analysis where it was determined: crude fiber, total carbohydrates, fat, protein and ashes, then the physicochemical composition was determined: titratable acidity, pH, color (using the CIEL-L \* a \* b c \* and h \* color system), the microbiological activity by plate count was analyzed, as well as the phenolic composition, total flavonoids , tannins, anthocyanins and antioxidant activity (free and bound fraction) by visible uv spectrophotometry, in a purple corn-based beverage due to storage effect for 30 days at 4 ° C. In the second phase, the postprandial antioxidant effect of the purple corn beverage (*Zea mays*) was evaluated in 18 participants in normal weight, which were randomly assigned 8 volunteers to the control group (white corn drink) and 10 to the study group (drink to purple corn), the antioxidant capacity in plasma was analyzed by the FRAP method, and the biomarkers F2-Isoprostane and LDL-ox in plasma were quantified by an ELISA immunoassay. The results of the first phase indicated the stability over time of the drink: for the pH parameter, a significant decrease is shown from day 0 to 8 (6.15 to 6.01), remaining stable until day 30, while the percentage acidity increased 0.01% from day 0 to day 4. Total soluble solids did not change significantly during storage. While the color remained stable except for the a\* coordinate which indicates the changes in red / green hue, observing a significant decrease from day 0 to 4. The

pasteurization treatment and the storage temperature were effective, since there was no growth of decomposing bacteria, as well as the absence of pathogens, complying with the provisions of NOM-218-SSA1-2011. The total phenols showed at day 0 a content of  $206.72 \pm 14.57$  mg GAE/L (40% free and 60% bound) increasing up to 27% at day 30 of storage, the total flavonoids decreased 24.82% from day 0 to day 4, being able to observe an increase of free flavonoids of 9.72% free compared to the bound ones, condensed tannins decreased 41% from day 0 to day 4. The anthocyanin content decreased 9% from day 0 to day 4, remaining stable until day 12. Finally, the antioxidant capacity by the ABTS and DPPH methods increased 90.84% and 26% respectively from day 0 to day 4. While by the FRAP method, a decrease of 7.45% was observed in the same period. For phase II, the results indicated that the consumption of the control drink significantly decreased the levels of antioxidant capacity in plasma during the first 120 minutes after ingestion of the drink ( $p= 0.044$ ), compared to the study beverage which did not present significant changes for 180 minutes, resulting in an AUC 4.81 times lower in the control group vs the study group. The results obtained for Lox LD in both groups tended to increase, however, there was no significant difference. While F2-isoprostane showed a tendency to increase in the control group ( $2.56 \pm 13.89$  pg/mL), with respect to the basal state and to decrease in the study group ( $-0.04 \pm 10.41$  pg/ mL), with no significant difference between treatments. The results showed that the ingestion of the purple corn-based drink improved the postprandial antioxidant capacity in plasma in healthy subjects, without influencing the markers LDL-ox and F2-isprostane.

### **3. ANTECEDENTES**

#### **3.1.Bebidas procesadas**

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana 051-SCFI/SSA1-2010 una bebida es un líquido natural o transformado, que es consumido por los humanos, proporcionando al organismo nutrientes sin sobrepasar 0.50% en volumen de etanol (López-Olmedo et al., 2018). Por otro lado, Rivera-Paredes et al., (2018), mencionan que las bebidas, además del agua, son líquidos que los humanos consumen, a excepción de comidas y sopas líquidas. Mientras que las bebidas procesadas azucaradas (BPA) (Tabla 1) son aquellas a las que se les han agregado edulcorantes (jarabe alto en fructosa, sacarosa, entre otros) que no provienen naturalmente de ellos lo que ocasiona que su aporte calórico aumente. Así mismo, algunas bebidas, además de endulzantes calóricos, contienen edulcorantes considerados como no calóricos (aspartame, sucralosa, etc.) los cuales han sido relacionados con la modificación de mecanismos periféricos y centrales, como son la alteración en la secreción de hormonas reguladoras de mecanismos involucrados en el control de la ingesta y saciedad (Romo et al., 2017).

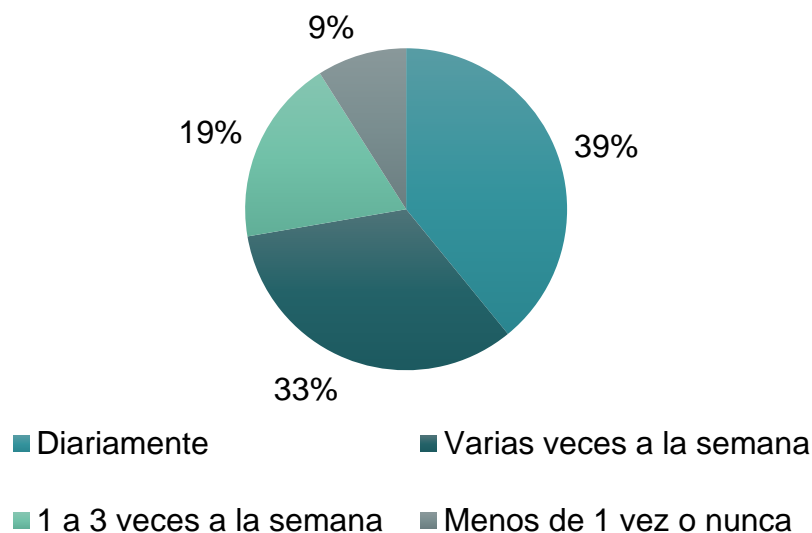
En la ENSANUT 2016 (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino) se reportó la frecuencia del consumo de bebidas azucaradas por localidad de residencia a nivel regional y nacional, reportando que entre el 32 y 39.1% de la población ingiere bebidas azucaradas más de 4 días a la semana, el 18.7% tres veces al mes y un porcentaje menor al 9% menos de una vez o nunca. Las bebidas que son principalmente consumidas en México son los refrescos, el agua y los jugos, en el Figura 1 se muestra el porcentaje de consumo de cada uno de los tipos de bebidas consumidas en los hogares de nuestro país (no alcohólicas), destacando que, alrededor del 96% del gasto de los hogares en bebidas no alcohólicas se relaciona con los refrescos, agua y jugos (Meneses-Leon et al., 2014).

**Tabla 1.** *Clasificación de las bebidas procesadas azucaradas*

<b>Clasificación</b>	<b>Descripción</b>
<b>Carbonatadas</b>	Endulzadas, bebidas carbonatadas, concentrados y refrescos.
<b>Jugo</b>	Jugo a base de frutas o verduras (100%), con edulcorantes a una concentración de $\geq 2\%$ .
<b>Néctares</b>	Néctares de fruta, vegetales con edulcorantes, vitaminas y minerales.
<b>Jarabes</b>	Concentrados de frutas o saborizantes.
<b>Bebidas en polvo</b>	Para diluir.
<b>Té/ café (bebidas frías) listas para beber</b>	Té o café y polvos para dilución.
<b>Bebidas deportivas</b>	Bebidas iso/hipertónicas, con dióxido de carbono o no, para diluir.
<b>Bebidas energéticas</b>	Bebidas gasificadas, que pueden contener taurina, glucosa, cafeína, vitaminas y minerales.

*Nota.* Adaptado de Kregiel, 2015

**Figura 1.** *Consumo de bebidas azucaradas en México.*



*Nota.* El gráfico fue elaborado con información de ENSANUT 2016

### **3.1.1 Composición y efectos en la salud**

Las bebidas procesadas azucaradas representan para la población mexicana la principal fuente de azúcares dietéticos agregados y calorías vacías. La tendencia actual en el consumo de BPA durante las últimas décadas sugiere que hay cambios significativos en el perfil nutricional de la población mexicana (Rivera-Paredes et al., 2018). Se ha reportado que alrededor del 72.5% de personas mayores de edad, tienen una predisposición al sobrepeso y la obesidad, condiciones que, a su vez, predisponen a padecer padecimientos crónico-degenerativos, que implican un gasto de hasta el 80% del presupuesto general de salud. (ENSANUT MC, 2016).

Los problemas de salud, a los cuales ha contribuido en cierta manera el alto consumo de BPA, han provocado que las empresas procesadoras hayan evolucionado su portafolio, implementando estrategias como el lanzamiento de productos con capacidad antioxidante, en los cuales se declara el contenido de

polifenoles y porcentajes de extractos naturales en sus etiquetas; sin embargo, las cantidades no han sido justificadas ni sustentadas con evidencia científica para demostrar que existe tal efecto, destacando de manera importante su alto contenido en azúcar y su deficiente aporte nutritivo (Tabla 2) (United States Department of Agriculture, 2018).

**Tabla 2.** *Contenido nutrimental en las principales bebidas consumidas en México.*

<b>Producto</b>	<b>Energía (kcal)</b>	<b>Azúcar (%)</b>	<b>Vitaminas</b>	<b>Minerales</b>
<b>Fuze tea 360 mL</b>	68	19	B6: 0.20 mg B12: 0.6 µg	-
<b>Ocean Spray Arándano 100 mL</b>	50	12.5	Vit C: 25 mg	Ca: 8 mg K: 71 mg
<b>Del Valle antiox 250 mL</b>	126	12	-	-

*Nota.* Elaboración propia con datos de la USDA, 2018.

Diversos estudios han indicado que el consumo de una porción diaria (350 mL) de bebidas azucaradas por una semana está asociado con la ganancia de 1 kg (Stern et al., 2017). Por otro lado, en un estudio realizado en San Francisco, California en población mexicanoamericana, se estudió el consumo de bebidas azucaradas y su relación con la obesidad, obteniendo como resultado que más del 20% de la población estudiada sufría de sobrepeso y un 31% de obesidad. Así mismo, el consumo de este tipo de bebidas ha sido asociado con el desarrollo de patologías que se caracterizan por inflamación crónica debido al aumento del tejido adiposo, produciendo moléculas proinflamatorias que pueden ser estimuladas por mecanismos endógenos y exógenos (Beck et al., 2014). Los



procesos inflamatorios que están presentes en el tejido adiposo de sujetos con obesidad, la cual es una enfermedad multifactorial que se caracteriza por una acumulación excesiva de grasa en el tejido adiposo, desencadenan una generación excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS), activando las vías de señalización proinflamatorias y sensibles al estrés, que, a su vez, modulan los niveles de expresión génica de varias citoquinas proinflamatorias que alteran la secreción de insulina. Además, las ROS pueden alterar las respuestas antioxidantes del organismo al estrés oxidativo (Boušová et al., 2015).

### **3.1.2 Estrés oxidativo y su asociación con patologías crónicas**

En condiciones fisiológicas normales, todas las células del cuerpo están expuestas crónicamente a oxidantes de fuentes endógenas y exógenas; sin embargo, el mecanismo intracelular de "tampón redox" proporciona una protección significativa principalmente por la red antioxidante. La alteración en el equilibrio prooxidante-antioxidante conduce a un estrés oxidativo (Gouda et al., 2016). De la misma manera, los procesos inflamatorios que están presentes en el tejido adiposo obeso desencadenan una generación excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS), activando así las vías de señalización proinflamatorias y pueden alterar las respuestas del organismo al estrés oxidativo (Boušová et al., 2015).

El rol de la captación de los radicales libres en la oxidación de los componentes de la pared celular, es de gran importancia para enfermedades cardiovasculares debido a que los lípidos son susceptibles a la oxidación gracias a su estructura molecular y su reacción con dobles enlaces. Algunos alimentos funcionales como las frutas y vegetales con alto contenido de compuestos fenólicos se han asociado con diferentes beneficios a la salud, como la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes, procesos inflamatorios y enfermedades neurodegenerativas, debido a los diversos mecanismos de los compuestos fenólicos que limitan el estrés oxidativo (Azofeifa et al., 2016). Para el monitoreo del estado oxidativo, se emplean "biomarcadores" los cuales son

indicadores de un estado biológico, que se pueden cuantificar para proporcionar información sobre el estado de salud o la progresión de una patología; indicando cambios fisiológicos o respuestas a un tratamiento. De tal manera que se pueden emplear enzimas, sustancias biológicas, expresiones genéticas.

### **3.1.3 LDL-ox**

El LDL oxidado (LDL-ox) se forma a partir de la modificación oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), en donde se acumulan en el espacio subendotelial extracelular de las arterias y sufre una modificación oxidativa, la cual desencadena eventos proaterogénicos, en los que las células vasculares locales son estimuladas por LDL-ox para producir proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) y factores estimulantes de colonias de granulocitos y macrófagos que promueven el reclutamiento de monocitos hacia el endotelio, seguido de la conversión a macrófagos en la pared arterial, el reclutamiento de las células mononucleares sanguíneas hacia el endotelio es estimulado por una expresión inducida por citocinas y moléculas de adhesión a la superficie de las células endoteliales (Noratto, et al., 2017). La oxidación de LDL se estimula aún más por la acumulación de monocitos y macrófagos, provocando la modificación del componente de la apolipoproteína B de LDL, aumentando el reconocimiento de los receptores captadores en los macrófagos y la captación de LDL, formando células espumosas. Como consecuencia a esto se da como resultado la maduración de la lesión aterosclerótica y la precipitación de eventos como la proliferación de la íntima, fibrosis, degradación de la matriz, rotura de la placa y trombosis (Kris-Etherton, et al., 2004).

Algunas de las ventajas de este biomarcador, son su alta reproducibilidad en muestras congeladas, así como su cuantificación en plasma para su correlación con enfermedades clínicas, así mismo puede ser predictor de enfermedades cardiovasculares en población sana (Muid, et al., 2019). Además, existe evidencia que sustenta que el consumo de alimentos con un alto contenido de compuestos fenólicos ayuda disminuir la oxidación de LDL, así como el consumo

de suplementos como vitaminas antioxidantes, alfa tocoferol, ácido ascórbico, B caroteno, ácidos grasos (Vlad, et al., 2019). Frutas como los arándanos, la mora azul, vegetales, bebidas como algunos té, vino tinto, entre otros, son ricos en compuestos fenólicos y han demostrado tener un efecto antioxidante debido a su alto contenido de flavonoides (Lapointe, et al., 2006). El mecanismo relacionado a la disminución de la oxidación de LDL, se ha asociado principalmente a compuestos fenólicos como los flavonoides, los cuales están formados por estructuras en forma de anillos aromáticos ligados a tres carbonos que forman un heterociclo oxigenado. Estos pueden actuar a través de diferentes vías, una de ellas es la quelación de metales y la captación de radicales libres, como la quelación del hierro y el cobre por los grupos carbonilo e hidroxilo de los flavonoides, previniendo la peroxidación lipídica (Sarker & Oba, 2019). También, pueden actuar como terminadores de radicales libres donando electrones para producir compuestos estables, ya que son captadores de radicales hidroxilos y peróxido, así mismo, eliminan los radicales superóxidos (Cook & Samman, 1996).

El papel de los compuestos fenólicos sobre la oxidación lipídica se pudo observar en un estudio realizado sobre el consumo de 600 mL/día de una bebida de chocolate, donde se pudo evidenciar la disminución significativa de las concentraciones de LDL-ox en sujetos sanos después de dos semanas de haber ingerido la bebida, se observó que el consumo de 80 g de chocolate semiamargo disminuye la oxidación de LDL en plasma, por lo que se atribuyó este efecto a la capacidad de los polifenoles de inhibir la producción de peróxido de hidrógeno y el anión superóxido en humanos, posiblemente por la captación de especies reactivas al oxígeno (Kris-Etherton et al., 2002). Haddad et al., (2014), reportaron que el consumo de una bebida de nuez de castilla (95 g/250 mL) disminuyó 8 veces la concentración de LDL-ox en el grupo estudio comparado con el control durante la hora 8 postprandial.

### **3.1.4 F2-Isoprostano**

Otro biomarcador es el F2-isoprostano (F2-Iso), el cual en altas concentraciones se ha asociado a enfermedades como la hipercolesterolemia, diabetes mellitus, obesidad e hiperhomocisteinemia en personas fumadoras (Wu et al., 2004). Este biomarcador pertenece a la familia de las prostaglandinas, las cuales son generadas a partir de la peroxidación del ácido araquidónico, un ácido graso presente en los fosfolípidos de la membrana celular (Morrow et al., 1992). La generación de isoprostanos a partir del ácido araquidónico es independiente de la enzima ciclooxigenasa, que cataliza la formación de prostaglandinas a ácido araquidónico, son llevados de la membrana celular a la circulación mediante fosfolipasas, posterior a esto pueden ser cuantificados en órganos, sangre y orina. Los F2-Isoprostanos son llamados de esta manera, ya que contienen anillos del tipo “F”, son los más estables de la familia de los isoprostanos, por lo que muestran ser un marcador potencial ya que en diversos estudios se ha relacionado los niveles de isoprostanos en plasma y orina con el estrés oxidativo (Ho et al., 2013).

En estudios dietéticos se ha observado como este marcador disminuye en plasma después de la ingesta de alimentos con perfil alto en compuestos fenólicos. Vetrani et al., (2018), en una intervención nutricional con una dieta rica en polifenoles, reportaron que el consumo de 78 mg/kg al día de antocianidinas disminuye -0.309 ng/Kg al día la concentración de F2-IsoPs urinarios, indicando una mejoría en el estado oxidativo.

### **3.2 Bebidas funcionales**

En la actualidad, el desarrollo de alternativas a las BPA, ha sido un tema de impacto en el área de desarrollo de nuevos productos y de la salud en conjunto ya que las BPA, debido a su alto contenido calórico y su deficiente aporte de nutrimentos esenciales para el buen desarrollo del cuerpo humano, se asocian con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles, lo que se ha

convertido en una fuerte problemática para las autoridades nacionales y en un reto para la comunidad científica y del área de salud pública (Paredes et al., 2015).

El término “alimento funcional” surgió en Japón en el año 1984, destacando los nutrientes presentes en el alimento, la calidad sensorial, fortificación y modulación que puede mejorar el estado de salud o la reducción de riesgo de enfermedad (Shahidi F., 2009).

En general, los componentes de una bebida funcional pueden ser:

- Naturales, no modificados.
- Mejorados mediante el desarrollo de cultivos, reproducción o medios biotecnológicos.
- Agregados.
- Removidos por medios tecnológicos o biotecnológicos para que proporcione beneficios que no están disponibles de otra manera.
- Reemplazados por un componente alternativo con propiedades favorables.
- La modificación de componentes por enzimas o algún proceso químico.
- Con una modificación para aumentar la biodisponibilidad de sus componentes.
- Combinación de los métodos mencionados anteriormente (Guillon et al., 2011).

El consumo de bebidas funcionales y medicinales es muy importante en la vida diaria de los humanos, tomando en cuenta los componentes bioactivos que forman parte de las bebidas, los cuales tiene una amplia gama de efectos farmacológicos que se insertan en la dieta cotidiana. Hoy en día, las bebidas funcionales más consumidas se obtienen de las hojas de *Camellia sinensis* y del

procesamiento del grano de café, y contienen diferentes clases de polifenoles y ácidos fenólicos en su composición fitoquímica (Valduga et al., 2018).

### **3.2.1 Té verde (*Camelia sinensis*)**

El té verde es considerado la segunda bebida de mayor consumo, solo después del agua. El té verde se caracteriza por contener una cantidad abundante de polifenoles, alrededor de 30-42% de su peso en sólidos. Su principal componente son las catequinas epicatequina, epicateuina galato, epigallocatequina y epigallocatequina galato (Taylor et al., 2009). En años recientes, ha sido estudiada la relación entre el consumo del té verde y la prevención de diversos trastornos, incluyendo la diabetes. En un estudio prospectivo de cohorte de 38,176 participantes, realizado en la Universidad de Harvard se observó una disminución de riesgo en la diabetes tipo dos, con el consumo de por lo menos tres tazas por día de té verde (Song et al., 2013). Por otro lado, en Japón se reportó la actividad antidiabética en un estudio realizado en 17,413 participantes que consumieron té verde relacionándolo inversamente con el riesgo de contraer diabetes (Angeles et al., 2017).

### **3.2.2 Vino tinto**

El vino tinto es una bebida caracterizada por su composición química, en la que después del agua, sus principales componentes son el etanol, dióxido de carbono, glicerol, azúcares, polisacáridos, alcoholes y los compuestos fenólicos (2143 mg/L EAG). Dentro de los principales componentes fenólicos del vino tinto un 85% está conformado por flavonoles y antocianinas. Se han atribuido diversos beneficios para la salud al consumo del vino tinto, por un lado, se ha observado que el consumo de comida alta en grasa predispone al deterioro de la función endotelial, sin embargo, el consumo de vino tinto una vez a la semana durante 4 semanas, disminuye estos daños en hombres sanos (Snopek et al., 2018). Por otro lado, en el Centro de Investigación Europeo de Cáncer y Nutrición, realizaron

un estudio de cohorte con una duración de 8 a 10 años, en mujeres y hombres de entre 35 y 56 años, asociaron el consumo moderado de vino tinto, (4 vasos por semana), con una menor incidencia del desarrollo de Diabetes Tipo Dos (Cullmann et al., 2012). Muchos estudios han relacionado estos efectos a la salud por la capacidad antioxidante de los polifenoles presentes en el vino tinto, mientras que otros reportan que la bioactividad de los polifenoles en cuanto a las propiedades antiinflamatorias y vasodilatadoras, impactan directamente por la señalización celular y modulación de la microbiota en el colón (Fagundes et al., 2013).

El efecto benéfico del consumo del vino tinto se ha atribuido principalmente a su porción no alcohólica, que tiene propiedades antioxidantes y una amplia variedad de compuestos fenólicos, generalmente llamados polifenoles. Los compuestos fenólicos del vino pueden prevenir o retrasar la progresión de las enfermedades intestinales caracterizadas por el estrés oxidativo y la inflamación, especialmente porque alcanzan concentraciones más altas en el intestino que en otros tejidos. Dichos compuestos actúan como supresores de radicales libres y moduladores de genes específicos relacionados con la inflamación que participan en la señalización redox celular. Además, la importancia de los polifenoles del vino ha sido destacada recientemente por su capacidad para actuar como prebióticos y agentes antimicrobianos (Fagundes et al., 2013).

### **3.2.3 Café**

El café es una de las bebidas más consumidas en el mundo. La relación entre el consumo frecuente de café y las enfermedades cardiovasculares ha sido estudiada ampliamente. Esta bebida contiene una importante cantidad de componentes fenólicos (200-550 mg/taza) los cuales han sido caracterizados por poseer actividad antioxidante, el ácido clorogénico pertenece a la familia de ésteres que se forman por el ácido quínico y ácido cinámico, así como ácido cafeico, ferúlico y p-cumárico. De los ácidos clorogénicos, el ácido 5-cafeoilquinico es el isómero más abundante en Café (Natella et al., 2007). Los

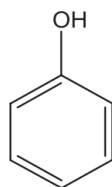
componentes del café, particularmente los ácidos hidroxycinámicos, protegen contra la aterotrombosis y el desarrollo de lesiones ateroscleróticas a través de los mecanismos de protección endotelial, que suprimen el estrés oxidativo (Miranda et al., 2017). Se ha observado una disminución de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) tras el consumo de café, este efecto puede explicarse debido a que el contenido fenólico puede interactuar neutralizando las especies reactivas de oxígeno. La ingesta de polifenoles reduce la susceptibilidad oxidativa de las LDL y sus constituyentes, como la vitamina E y la fosfatidilcolina, lo que indica un papel antiinflamatorio en condiciones fisiopatológicas. Estos hallazgos indican que las dietas ricas en antioxidantes pueden retrasar el inicio y la progresión del proceso de la enfermedad aterosclerótica de dos maneras distintas y relacionadas (Natella et al., 2007).

### 3.3 Componentes bioactivos en los alimentos

#### 3.3.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos pertenecen a un grupo diverso de metabolitos secundarios que producen las plantas, se encuentran en una gran variedad de alimentos, son conformados por un anillo aromático, unidos a uno o más grupos hidroxilo, así como como: ésteres, glucósidos, entre otros (Vermerris & Nicholson 2009).

**Figura 2.** *Anillo aromático presente en compuestos fenólicos*





### 3.3.2 Clasificación

Una gran variedad de compuestos, pertenecen al grupo de los compuestos fenólicos, identificándose más de 8,000 moléculas con estructura fenólica (Spencer et al., 2004). Estos compuestos se pueden clasificar de acuerdo con el número de carbonos en la molécula (Tabla 4).

**Tabla 3.** *Clasificación de los compuestos fenólicos.*

Estructura	Clase
$C_6$	Compuestos fenólicos simples.
$C_6 - C_1$	Ácidos fenólicos.
$C_6 - C_2$	Acetofenonas y ácidos fenilacéticos.
$C_6 - C_3$	Ácidos cinámicos, aldehídos cinamílicos, alcoholes cinamílicos.
$C_6 - C_3$	Cumarinas, isocumarinas, cromonas.
$C_{15}$	Chalconas, auronas, dihidrochalconas
$C_{15}$	Flavonas, Flavones, flavanones, flavanoles, antocianidinas, antocianinas.
$C_{30}$	Biflavoniles
$C_6 - C_1 - C_6 - C_6 - C_2 - C_6$	Benzofenonas, xantonas, estilbenos.
$C_6 - C_{10} - C_{14}$	Quinonas.
$C_{18}$	Betacianinas.

<b>Estructura</b>	<b>Clase</b>
<b>Lignanós, neolignanós</b>	Dímeros u oligómeros
<b>Taninos</b>	Oligómeros o polímeros.

*Nota.* Adaptado de Vermerris & Nicholson, 2009.

### **3.3.3 Compuestos fenólicos libres y ligados**

Los compuestos fenólicos existen tanto en forma soluble o insoluble (ligada) en células vegetales. En el primer grupo están los fenoles libres, glucosilados y esterificados que se ubican en mayor cantidad en las capas externas de los granos (pericarpio, testa y células de aleurona), mientras que su concentración es menor en el endospermo (Yu et al., 2001). En contraste, los compuestos fenólicos ligados, están unidos por enlaces covalentes tipo éster a componentes de la pared celular como celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina, etc. Estos compuestos no son absorbidos en el intestino delgado, debido a la ausencia de enzimas que puedan hidrolizar los enlaces de unión entre ellos, por lo tanto, la mayor parte de ellos pasan al intestino grueso donde son metabolizados por la microbiota intestinal para producir compuestos de menor peso molecular (Inglett & Chen 2011). Por lo tanto, para su cuantificación se requieren condiciones específicas, como la alcalinidad, para que permitan la ruptura de los enlaces que rodean a la matriz (Urias-Orona et al., 2016).

### **3.3.4 Propiedades antioxidantes**

Los radicales libres representan especies químicas reactivas que poseen un electrón no apareado en la órbita externa, los radicales de nitrógeno y radicales de oxígeno actúan como agentes oxidantes. Pueden producirse por una variedad de mecanismos en el organismo, conocidos como daños oxidativos, y su producción descontrolada puede ser perjudicial para las biomoléculas, células,

tejidos y órganos del cuerpo (Riaz et al., 2018). Los primeros mecanismos de defensa de los antioxidantes vegetales contra el daño oxidativo son aquellos que disminuyen la presencia de radicales oxidativos libres y los que inhiben o capturan los radicales. Una primera “línea de defensa” está representada por los antioxidantes de bajo peso molecular que incluyen una gran variedad de moléculas que forman parte de los productos dietéticos (polifenoles, tocoferoles, retinoides) (Gagnière & Bonnet, 2017).

En el Instituto de Investigación Animal y Alimentos en Polonia, se realizó un estudio en murinos donde se añadió a su dieta un extracto de fresa, lo cual ejerció modificaciones favorables como la disminución del nivel de peroxidación de lípidos y un mayor efecto antiinflamatorio en muestras de suero sanguíneo (Fotschki et al., 2018). Por otro lado, en un estudio llevado a cabo en el Centro de Investigación Nacional de Nutrición y Alimentos en Egipto, se realizó una intervención nutricional en 35 pacientes sanos con mezclas de jugo de granada (150-250 g por día) y una bebida a base de arroz y probióticos (denominada sobya), se logró observar efectos sinérgicos positivos, el jugo de granada mostró una mejora en el estado antioxidante en los participantes al reducir el daño oxidativo en los lípidos al disminuir los especies urinarias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS) urinarios y mejorar los mecanismos antioxidantes; mientras que la bebida “sobya” fermentada con probióticos estimula la actividad Glutathión-S-Transferasa GST de los eritrocitos (Gouda et al., 2016).

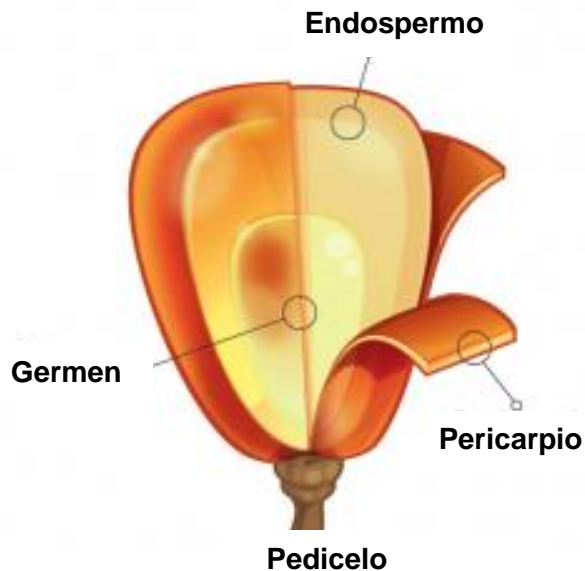
### **3.4 Maíz (*Zea mays*)**

#### **3.4.1 Generalidades**

En México, como representante de origen del maíz (*Zea mays* L.), este cultivo constituye la base principal de gran parte de su cultura indígena (González, 2015). La estructura del grano de maíz se compone de endospermo (82–83%), germen (10–11%), pericarpio (5–6%) y pedicelo (0.8–1.0%) (Figura 3). El pericarpio es la capa externa que se caracteriza por un alto contenido de fibra cruda, que consiste principalmente en hemicelulosas, celulosa y lignina. El

pericarpio y la tapa de la punta constituyen una pequeña porción de los lípidos totales del núcleo, el endospermo está compuesto por una gran cantidad de células, cada una llena de gránulos de almidón incrustados en una matriz continua de proteínas. La pared celular está formada por polisacáridos sin almidón ( $\beta$ -glucano y arabinoxilano), proteínas y ácidos fenólicos. El grano de maíz tiene dos tipos de endospermo: harinoso y córneo (Narpinder et al., 2014).

**Figura 3.** *Estructura del grano de maíz.*



El grano de maíz tiene un contenido de proteínas del 8-11.5%, de almidón 68-74% y grasa 4-5.5%, a su vez, contiene compuestos bioactivos, como: carotenoides, antocianinas y compuestos fenólicos, los cuales se caracterizan por tener propiedades que promueven la salud y disminuyen el riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles (Narpinder et al., 2014). En los genotipos de maíz pigmentados, la mayor concentración de antocianina está presente en la porción de pericarpio, mientras que la capa de aleurona contiene pequeñas cantidades (Moreno et al., 2005).

### **3.4.2 Producción de maíz**

México representa el octavo lugar en producción mundial de maíz, en 2017 exportó a países destacando a Venezuela (58%), Kenia (33%) y Estados Unidos (4%), entre otros (6%), ubicando a México dentro de los principales 10 exportadores del maíz a nivel mundial. Se sabe que la producción de este cultivo ronda entre los 27.8 mil millones de toneladas en el país por año. Se sembraron aproximadamente 7.5 millones de hectáreas, debido a que el territorio posee condiciones adecuadas para sembrar este cultivo, produciéndose maíz en los 32 estados de la República Mexicana. De acuerdo con los indicadores principales de producción, Nuevo León como miembro de la zona norte, ocupa el segundo lugar de producción de maíz, predominando el maíz de riego con un mayor rendimiento, seguido por el maíz de temporal. El maíz morado está asociado con mejor sabor de subproductos como las tortillas, sabor dulce y textura suave del elote, fácil desgrane; sin embargo, presenta una difícil comercialización por la preferencia de las variedades blancas y amarillas por su utilización como materia prima para la elaboración de tortillas (Gutiérrez & Rodríguez, 2008).

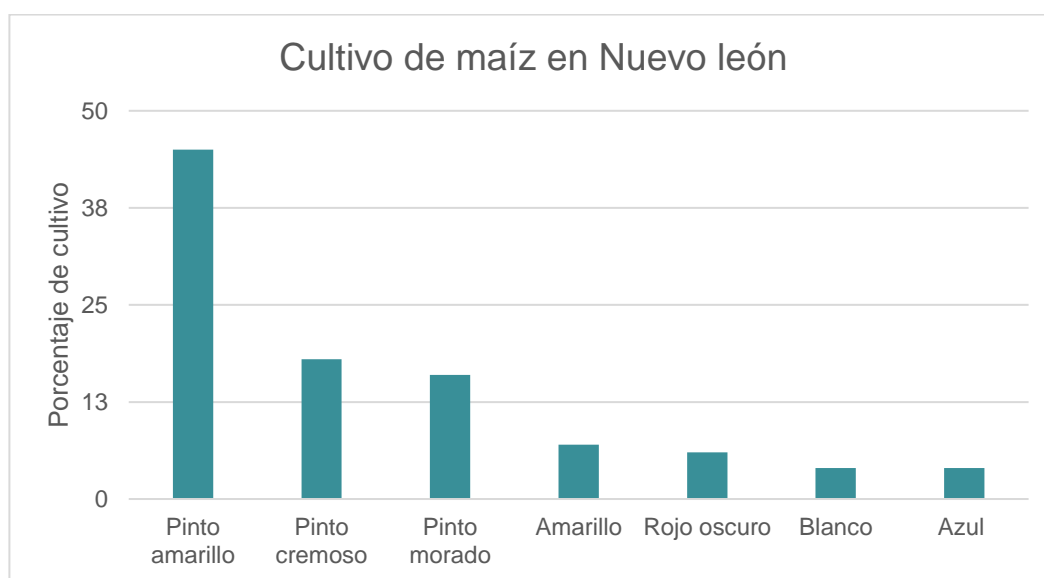
### **3.4.3 Variedades del maíz (*Zea mays*)**

El maíz ha sido estudiado debido a su variabilidad (López et al., 2009). De acuerdo con el estudio realizado por La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) en el 2012, las principales variedades según la raza son las siguientes:

- Tuxpeño Norteño
- Tuxpeño
- Cónico Norteño
- Tabloncillo
- Tablilla de Ocho
- Celaya

Por otro lado, alrededor del 48% del maíz cultivado en Nuevo León pertenece al maíz pinto amarillo (granos blancos o blanco cremosos con amarillos en las diversas tonalidades), seguido por el blanco cremoso con 18.7%, el pinto morado (granos blancos o blanco cremosos con granos azules o rojos en sus diversas tonalidades) registró en 17.3%, los maíces amarillos y rojo oscuros 5.3% cada uno y los colores menos frecuentes fueron el blanco y el azul (incluye el azul oscuro) con 2.7% cada uno (Figura 4) (Gutiérrez & Rodríguez, 2008).

**Figura 4.** *Cultivos de tipos de maíz nativos del estado de Nuevo León. Adaptado de Gutiérrez & Rodríguez, 2008.*



#### **3.4.4 Composición fenólica y actividad antioxidante de las principales variedades de maíz en México**

Se ha observado que las diversas variedades de maíz poseen diferentes actividades y perfiles antioxidantes. Estudios han reportado biocomponentes en

los cuales se han identificado compuestos fenólicos totales, antocianinas y ácido ferulico (Harakotr et al., 2014).

En un estudio realizado en el Instituto Tecnológico de Veracruz, México, se cuantificó la capacidad antioxidante y contenido fitoquímico (fenólico total, antocianinas y ácido ferúlico) (tabla 4) en 18 variedades de maíz mexicano. De acuerdo con la tabla 4, el contenido fenólico total varió de 215.9 a 3400 mg de ácido gálico/ 100 g de harina de grano, mientras que el contenido de antocianinas varió de 1.54 a 850 mg de equivalentes de cianidina-glucósido/100 g de harina de grano entero. La mayoría de los compuestos se encuentran de manera ligada, mientras que las antocianinas fueron de los principales compuestos fenólicos libres, así mismo se identificó que las variedades color púrpura tuvieron mayor contenido de antocianinas y exhibieron una mejor actividad antioxidante (Lopez-Martinez et al., 2009).

**Tabla 4.** *Composición fenólica de 4 variedades de maíz*

Color	Contenido fenólico*			Antocianinas**	Ácido ferúlico***		
	Total	Libres	Ligados		Total	Libre	Ligado
<b>Amarillo</b>	551	104	447	70.2	140	2.01	138
<b>Blanco</b>	170	33.4	136	1.54	148	1.57	146
<b>Morado</b>	3400	680	2720	850	153	1.96	151
<b>Rojo</b>	465	82.3	384	85.2	153	2.02	151

*Nota.* Los valores son \*expresados en mg de ácido gálico/100 g de muestra; \*\*mg de cianidin-3-glucosido/100 g de muestra; \*\*\*mg de ácido ferúlico/100 g de muestra. Adaptado de (Lopez-Martinez et al., 2009).

### 3.4.5 Fibra dietaria

Se ha observado que el maíz contiene fibra dietaria, principalmente por presentar alto contenido de hemicelulosa y celulosa. En un estudio realizado en Polonia, realizaron formulaciones altas en fibra producidas a partir de maíz deshidratado obteniendo un rango de entre 89.9 a 93.2 g/100 g de fibra total, en donde las fracciones de fibra primarias estaban conformadas por hemicelulosas y celulosas (43.5 g/100 g y 34.4 g/100 g respectivamente).

La fibra dietaria, se considera como la parte del alimento que se altera por la digestión y es categorizada como soluble o insoluble. Por un lado, la fibra soluble es fermentada en el colon, absorbe el agua formando un gel después de la digestión, funcionando como un ablandador, facilitando el tránsito fecal (Axelrod & Saps, 2018). Está compuesta de polisacáridos, como  $\beta$ -glucano y arabinoxilano, puede formar soluciones viscosas. El aumento de la viscosidad en el intestino ralentiza el tránsito intestinal, retrasa el vaciado gástrico y ralentiza la absorción de glucosa y esteroides por el intestino. La fibra soluble viscosa puede reducir el colesterol sérico, la glucosa en sangre postprandial y los niveles de insulina. Por otro lado, la fibra insoluble contiene lignina y polisacáridos sin almidón y su fermentación está limitada. A pesar de que la lignina no es un polisacárido, es un biopolímero fenólico lipofílico que puede absorber los ácidos biliares, tienen una alta capacidad de retención de agua, lo que contribuye a aumentar el volumen fecal (Manthey et al., 1999).

En un estudio realizado en Serbia, donde participaron 47 sujetos (hombres y mujeres) con desordenes metabólicos de la glucorregulación y dislipidemia, fueron divididos en dos grupos, un grupo control en el que se incluyó en su dieta almidón resistente y el grupo de estudio al que se agregó fibra, ambos grupos consumieron >25 g/día durante 12 meses. Como resultados se pudo observar que, en el grupo al que se añadió almidón resistente, hubo una disminución del LDL 4.21 – 3.55 mmol/L mientras que, en el grupo que incluyó fibra en su dieta, se pudo observar una caída significativa en la glucemia después de la prueba de tolerancia oral a la glucosa de 2 h (7.93 vs 6.96 mmol / ), confirmando que la



intervención en el estilo de vida incluyendo cambios en el régimen dietético podría ser beneficiosa en la glucorregulación y los lípidos (Dodevska et al., 2015). Por otro lado, en un estudio realizado por la Universidad de Illinois en pacientes con obesidad, se observó que el consumo de fibra dietaria soluble logró reducir el peso corporal, el índice de masa y la repuesta de la insulina, favoreciendo mejoras antropométricas y metabólicas (Thomson et al., 2017). En otro estudio realizado en China, se observaron los efectos de la interacción del  $\beta$ -Glucano de cebada y los polifenoles del té verde en una bebida administrada en ratas, se observó una concentración menor en los niveles de glucosa en sangre (150 mM), comparado contra el control normal (25 mM), al igual que la concentración de LDL, la cual obtuvo una concentración 3 veces menor a la del grupo control (Gao et al., 2012). Existe una gran diversidad de fuentes de fibra dietaria soluble e insoluble (tabla 5), como lo es en la goma acacia, alginatos, fibra de manzana, carboximetil celulosa, fructooligosacáridos, fibra de arroz, almidón del maíz, entre otros.

**Tabla 5.** *Principales fuentes de fibra*

<b>Tipo de fibra</b>	<b>Alimento fuente</b>
<b>Celulosa</b>	Plantas (vegetales, granos)
<b>Hemicelulosa</b>	Cereales y granos
<b>Lignina</b>	Plantas
<b>Quitina, quitosano</b>	Hongos, levaduras, invertebrados
<b>Almidón resistente</b>	Plantas (maíz, papas, granos, legumbres, plátano)
<b>Curdian</b>	Fermentación bacteriana
<b>B-glucano</b>	Granos (avena, cebada, centeno)
<b>Pectina</b>	Frutas, vegetales, legumbres, papa

<b>Tipo de fibra</b>	<b>Alimento fuente</b>
<b>Gomas</b>	Semillas de plantas (guar), extractos de algas (carragenanos, alginatos), extractos de plantas (goma acacia, goma karaya), gomas microbianas (xanthan)
<b>Inulina</b>	Achicoria, alcachofa de Jerusalén, cebolla, trigo
<b>Oligosacárido</b>	Varias plantas, producidas sintéticamente (polidextrosa, maltrodextrina resistente, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, lactulosa)

---

*Nota.* Adaptado de (Sun, 2017)

### **3.4.6 Maíz morado como alimento funcional**

Se ha demostrado que los pigmentos hidrosolubles (antocianinas) pueden emplearse en la industria con la finalidad de enriquecer el producto funcional, agregando un posible beneficio a la salud. Además, se ha observado que un consumo frecuente de antocianinas puede traer consigo múltiples beneficios a la salud, como la regulación de la glucosa y aumento de la capacidad antioxidante en plasma (Guillén-Sánchez et al., 2010).

En un estudio realizado en Perú, se observó que se disminuyó el nivel del contenido de colesterol total en las ratas hipercolesterolemicas que recibieron tratamiento con diferentes dosis del extracto hidroalcohólico atomizado de maíz morado (250, 500 y 1000 mg/kg) aplicado oralmente durante dos meses, obteniendo diferencias significativas en los niveles de triglicéridos y colesterol HDL (Lipoproteínas de alta densidad). A mayor dosis de extracto se encontró una mayor reducción de radicales libres, con la dosis de 1000 mg/kg se redujo en 56,4% los niveles de malondialdehído. Así mismo, se ha reportado que el consumo diario de extracto hidroalcohólico de maíz puede disminuir los niveles de colesterol total y aumentar la capacidad antioxidante (Arroyo et al., 2007). Otro estudio *in vitro* realizado en Corea reveló que los componentes fenólicos

presentes en el maíz morado, primordialmente las antocianinas, disminuyeron la inflamación de los glomérulos del riñón, los cuales se encargan de la filtración de desechos y líquidos, en su mayoría agua, para que puedan así pasar al túbulo y finalmente producir orina (Li et al., 2012).

Por otro lado, también se ha observado que la función neuronal y cognitiva de ratas de laboratorio mejoraron a través de la suplementación nutricional con extractos de arándanos y fresas las cuales se ha demostrado que contienen hasta 106 mg de ácido elágico y 78 mg de antocianinas expresadas como mg equivalentes de cianidin-3-glucosido (Moreno, 2005).

#### **3.4.7 Bebida a base de maíz morado**

México es el centro de origen y diversificación del maíz, debido a esto, es importante para la dieta, la sociedad, la cultura y la economía de este país. Algunos tipos de maíz mexicano son genotipos nativos que producen granos amarillos, negros, morados, azules, rojos y naranjas. Las propiedades organolépticas del maíz morado han permitido que pueda ser utilizado para producir bebidas tradicionales (atoles, bebidas fermentadas y no fermentadas). Se ha demostrado que algunos tipos de maíz pigmentado entre ellos el maíz morado, tienen propiedades nutraceuticas gracias a su contenido de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante. Las investigaciones científicas demuestran que la composición del maíz morado puede emplearse en las industrias farmacológicas y alimentarias para obtener un producto de alto valor agregado. Debido a estas características Rodríguez-Salinas et al., (2019), desarrollaron una bebida a base de maíz morado, como uso alternativo del cultivo, otorgándole un valor agregado; la cual se caracteriza por su contenido mineral (Tabla 6) y composición fenólica (Tabla 7).

**Tabla 6.** *Composición mineral de la bebida a base de maíz morado*

Parámetro	Resultado
Calcio	204.96 ± 6.42
Magnesio	37.58 ± 1.26
Potasio	97.39 ± 3.49
Sodio	200.43 ± 1.32
Fósforo	160.97 ± 16.77
Azufre	83.76 ± 5.08

*Nota.* Adaptado de Rodríguez-Salinas et al., 2018.

De acuerdo con la composición de la bebida a base de maíz morado se observó que tiene un alto potencial nutraceutico, debido a estas características, se tomó como base para evaluar el efecto antioxidante de los compuestos bioactivos presentes en la bebida en un modelo *in vivo* y así poder categorizarlo como un producto funcional en beneficio de la salud.

**Tabla 7.** *Composición fenólica y capacidad antioxidante de la bebida a base de maíz morado.*

Parámetro	Resultado
*Fenoles totales	120.95
**Flavonoides totales	70.36
***Antocianinas totales	1.32
****Capacidad antioxidante	384.78
****Capacidad antioxidante ABTS	449.30
****Capacidad antioxidante FRAP	566.67

*Nota.* \*Expresado en mg GAE L<sup>-1</sup>; \*\* mg CatE L<sup>-1</sup>; \*\*\* mg C3GE L<sup>-1</sup>; \*\*\*\* µmol TE L<sup>-1</sup> Adaptado de Rodríguez-Salinas et al., 2018.

#### **4. Planteamiento del problema**

En los últimos años se ha incrementado el interés dentro del área científica en torno al estudio del consumo de bebidas con alto contenido calórico y deficientes en aportes nutritivos, particularmente porque el consumo de este tipo de bebidas procesadas, se ha relacionado con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles como lo la diabetes, hipertensión, obesidad y sobrepeso (Denova-Gutiérrez et al., 2008). La encuesta nacional de salud reportó que más de un 33% de la población mexicana consume bebidas azucaradas a diario, mientras que el 30% lo hace varias veces a la semana (Tschann et al., 2014).

El consumo prolongado de bebidas procesadas y de bajo aporte nutrimental, repercute de manera negativa en el estado nutricional de los consumidores, propiciando el desarrollo de enfermedades crónicas (Stern et al., 2017). Según una revisión sistemática, entre 42.5 y 51.8 millones de niños de 0 a 19 años se ven afectados por la obesidad en América Latina, es decir, aproximadamente el 20-25% de la población, siendo México el país donde se presenta la mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad en la región (Paredes et al., 2015). Un problema de esta magnitud exige una acción inmediata para detener su progreso. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la implementación de intervenciones multifactoriales a diferentes niveles para prevenir y atacar las condiciones de propagación del sobrepeso y la obesidad en la población.

Como una alternativa a este tipo de bebidas y aprovechando uno de los cultivos subutilizados de la zona sur de Nuevo León, se desarrollará y evaluará el efecto antioxidante en un modelo *in vivo* de una bebida a base de maíz morado, el cual se caracteriza por su alto contenido de nutrientes y compuestos fenólicos.

## **5. Justificación**

En la actualidad el consumo de bebidas azucaradas procesadas en México es uno de los principales factores para el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles. Por ello, durante los últimos años dentro de la comunidad académica y científica, se ha incrementado el interés en el estudio de alternativas a este tipo de bebidas como lo son las bebidas funcionales.

Se sabe que el alto contenido de antocianinas y ácidos fenólicos, así como fibra y otros macronutrientes contenidos en el maíz morado, le otorga propiedades funcionales y alto potencial de aplicación.

Este proyecto busca ofrecer una alternativa a las bebidas azucaradas y procesadas, mediante el desarrollo y la caracterización de una bebida funcional con efecto antioxidante en un modelo *in vivo* a base de maíz morado nativo de la región sur de Nuevo León.

## **6. Hipótesis**

La bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) es una bebida funcional debido a su efecto antioxidante en un modelo *in vivo*.

## **7. Objetivo general**

Evaluar una bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) con potencial funcional y efecto antioxidante en un modelo *in vivo*.

## **8. Objetivos específicos**

1. Caracterizar la composición nutricional y fisicoquímica de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*).
2. Analizar la calidad microbiológica de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) en condiciones de almacenamiento.
3. Determinar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) en condiciones de almacenamiento.
4. Evaluar el efecto antioxidante de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) en un modelo *in vivo*.

## **9. MATERIALES Y MÉTODOS**

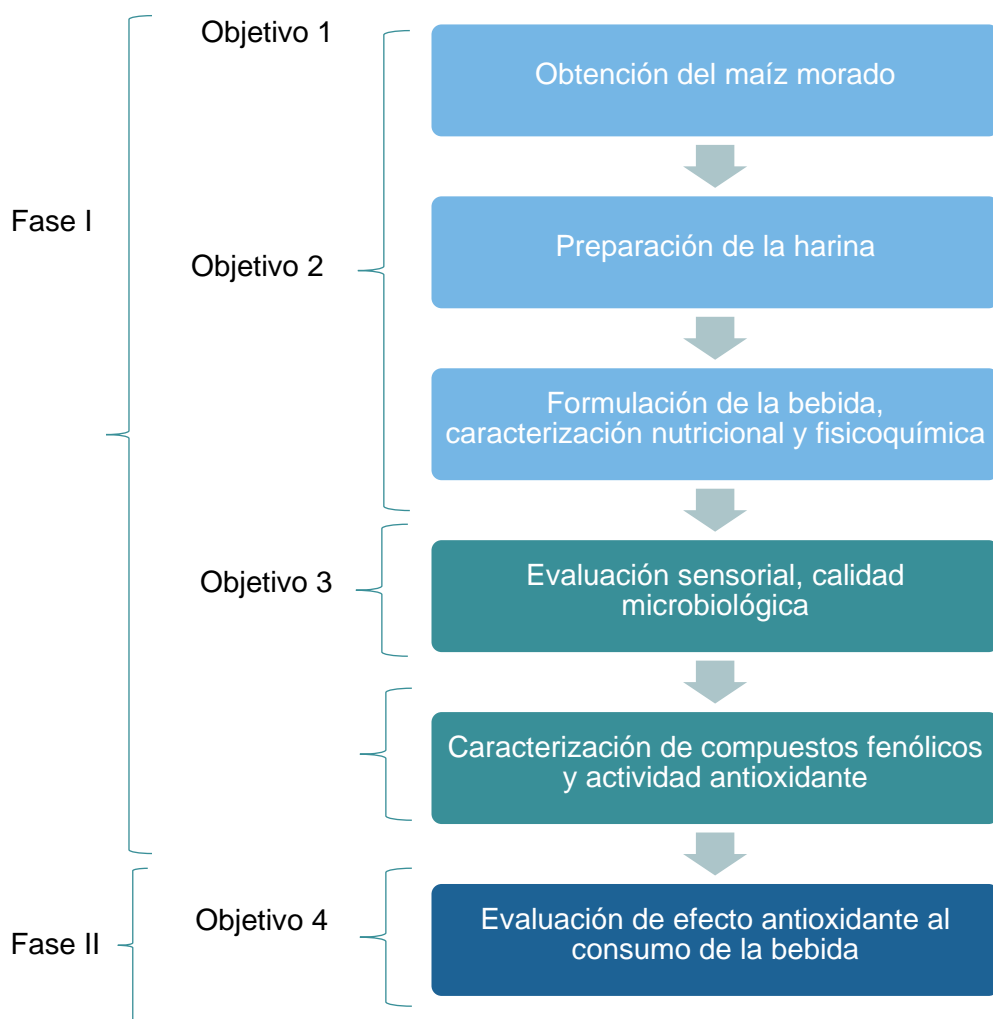
Los siguientes reactivos de grado analítico se obtuvieron de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO.: reactivo Folin-Ciocalteu,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ,  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{NaOH}$ , vainillina,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , ABTS (ácido 3-etil-benzotiazolina-6-sulfónico),  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ , metanol, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), TPTZ (2,4,5 tripiridil-s-triazina),  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ , Trolox,  $\text{HCl}$ , ácido acético, fenolftaleína, agua destilada, catequinas. El Kit ELISA para LDL-ox fue obtenido por el proveedor MyBiosource, San Diego California, EUA y Kit ELISA para F2-Isoprostano de abcam, Cambridge, Reino Unido.

## 9.1 Obtención del maíz morado

La muestra provino de una recolección directa del cultivo de maíz morado (*Zea mays* L.) variedad La Soledad ciclo primavera, cosechado en agosto 2018 en el ejido La Soledad, en el municipio de Aramberri, Nuevo León, México.

## 9.2 Diagrama metodológico

**Figura 5** *Diagrama general metodológico.*





### **9.3 Fase experimental I**

Esta fase consistió en la elaboración de la bebida, posteriormente se realizó el análisis nutrimental y se corrió una vida de anaquel durante 16 días en condiciones de mercadeo (refrigeración a 4°C), el muestreo se realizó cada cuarto días (0, 4, 8, 12, 16) por triplicado. Se analizó su estabilidad fisicoquímica, microbiológica, capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de acuerdo a las metodologías que se explicarán a continuación.

**Objetivo 1.** Desarrollar y caracterizar la composición nutricional y fisicoquímica de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*).

#### **9.3.1 Preparación de la bebida a base de maíz morado**

La bebida se preparó de acuerdo con la metodología reportada por Rodríguez-Salinas et al., (2019), materia prima: agua 94.83%, harina de maíz morado tostado 2.37%, (140°C durante 20 minutos), azúcar 1.90%, vainilla 0.47%, stevia 0.09%, canela 0.14%, goma xantana 0.09% y carboximetilcelulosa 0.05%. Se inició mezclando los ingredientes mediante agitación vigorosa con una batidora de inmersión durante 30 segundos, después se llenaron frascos de vidrio transparentes con 40 mL de la bebida y se realizó el proceso de pasteurización a 85°C durante 5 minutos, finalmente se almacenó a 4°C. Se hicieron muestreos cada cuarto día (0, 4, 8, 12, 16 y 30) por triplicado.

Para el análisis proximal, la muestra fue trabajada en base seca de acuerdo con la formulación por cada 100 mL de bebida.

### 9.3.2 Composición proximal

#### 9.3.3 Determinación de humedad (AOAC 925.10).

Para determinar la humedad se requirieron 3 cápsulas de aluminio previamente secadas en estufa de aire a 100-110°C por toda la noche, las cuales se dejaron en el desecador durante 30 min hasta obtener un peso constante. A cada capsula se le agregó 1 g de muestra de la formulación excluyendo el agua, introduciéndolas a la estufa durante toda la noche a 70°C. Posterior a esto, se sacaron las cápsulas y se colocaron en el desecador para dejarlas enfriar, finalmente se registró el peso. El Porcentaje de humedad fue calculado de acuerdo con la ecuación 1.

$$(1) \text{ Porcentaje de humedad} = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100$$

Donde “P1” es el peso de la muestra inicial y “P2” es el peso de la muestra final.

#### 9.3.4 Determinación de grasa (AOAC 920.39).

Se requirieron vasos Berzelius de 100 mL, colocados a 110°C durante toda la noche para un peso constante. Previo al análisis, estos vasos se dejaron enfriar en desecador y se registró el peso. En dedales de celulosa se colocaron 3 g de muestra envuelta en papel secante, los cuales se colocaron en el aparato de Goldfish, a cada vaso se le agregó éter etílico y se conectaron al equipo. Una vez conectados los dedales y el vaso, a su respectiva muestra, se dejó correr el refrigerante por el equipo y se encendieron las parrillas. Una vez empezado el reflujo ocasionado por el calor se contaron 4 h. Al término de estas 4 horas, se retiraron los dedales y se recuperó el éter. Una vez recuperado el éter los vasos se dejaron enfriar y se colocaron en estufa a 70°C durante toda la noche. Finalmente se sacaron los vasos y una vez que se enfriaron se registró el peso.

El porcentaje de grasa se obtuvo por la siguiente fórmula:

$$(2) \% \text{ de extracto etéreo} = \frac{P_f - P_v}{P_m} \times 100$$

Donde “Pf” es el peso final del vaso con grasa; “Pv” es el peso del vaso sin grasa; “Pm” es el peso de la muestra

### 9.3.5 Determinación de ceniza (AOAC 923.03).

En un crisol previamente pesado, se agregaron 3 g de muestra y se colocó en una parrilla donde se quemó lentamente hasta que el material ya no desprendiera humos. Posteriormente el crisol se llevó a la mufla y se efectuó la calcinación completa durante toda la noche. Transcurrido este tiempo, se sacaron los crisoles, se dejaron enfriar y se registró el peso.

El porcentaje de cenizas se determinó con la siguiente fórmula:

$$^{(3)} \%cenizas = \frac{(P-p)}{M} \times 100$$

Donde “P” es el peso inicial y “p” es el peso final de la muestra calcinada, “M” son los gramos de muestra iniciales.

### 9.3.6 Determinación de proteína (AOAC 960.52).

Se transfirió 1 g de muestra a un matraz Kjeldahl, al cual se le añadieron 2 g de sulfato de cobre, 10 g de sulfato de sodio anhidro, 25 mL de ácido sulfúrico y perlas de vidrio. El matraz se colocó en el digestor y se calentó a temperatura baja hasta que el material se hidrolizó, aumentando gradualmente la temperatura hasta que la disolución estuvo completamente clara y se dejó reposar por 30 min a esa temperatura. Después se enfrió y se añadió 400 mL de agua para disolver completamente la muestra, se agregaron 4 gránulos de zinc y 50 mL de hidróxido de sodio 1:1. Posteriormente, se conectó el matraz a un sistema de destilación, al cual se le colocó un matraz Erlenmeyer en la salida del refrigerante de 500 mL que contenía 50 mL de ácido bórico y unas gotas de reactivo Shiro Tashiro (Rojo de metilo) como indicador. Se destiló hasta que pasó todo el amoníaco.

Finalmente, se retiró el matraz recibidor y se tituló el destilado con ácido clorhídrico 0.10 N.

El porcentaje de nitrógeno fue calculado por la siguiente fórmula:

$$(1) \% \text{ de nitrógeno} = \frac{V \times N \times 0.014}{m} \times 100$$

Donde “V” es el volumen de ácido clorhídrico empleado en la titulación en mL; “N” la normalidad del ácido clorhídrico; “m” masa de la muestra en g; “0.014” los miliequivalentes del nitrógeno.

El porcentaje de proteína se obtiene por la siguiente fórmula.

$$(1) \% \text{ de proteína} = \% \text{ de nitrógeno} \times 6.25$$

Donde 6.25 es el factor correspondiente del maíz.

### **9.3.7 Determinación de fibra dietaria (AOAC 991.43).**

#### **9.3.8 Fibra dietaria total**

Para determinar la fibra total, se pesaron 100 mg de muestra por duplicado en tubos de centrifuga, a los cuales se adicionaron 10 mL de buffer de fosfatos 0.08 M y se ajustó el pH a  $6.0 \pm 0.2$  con NaOH 0.275 N o HCl 0.325 N. Seguido a esto, se adicionaron 10 µL de α-amilasa termoestable y se dejaron incubar a 95°C por 35 min en agitación constante. Transcurrido este tiempo, se enfriaron las muestras a 25°C y se ajustó el pH a  $7.5 \pm 0.1$  con NaOH 0.275 N. Después se adicionaron 100 µL de proteasa (25 mg/mL en buffer de fosfatos pH 6.0) y se incubaron a 60°C/ 35 min en agitación constante. Al finalizar la incubación, se dejó enfriar a 25°C y se ajustó el pH a  $4.5 \pm 0.1$ . Una vez ajustado el pH, se adicionó 60 µL de amiloglucosidasa y se incubó a 60°C durante 30 min con agitación constante. Finalizado esto, se agregó 125 mL de etanol al 96% y se filtró al vacío en crisol gooch con cama de celita previamente pesada (P1). Usando etanol al 78%, se realizó un primer lavado con 10 mL, después con 10 mL de etanol al 95% y 10 mL de acetona, se dejó secar en estufa de vacío

durante 24 horas a 70°C. Transcurrido este tiempo, se sacaron las muestras, se dejaron enfriar y se registró el peso de los crisoles hasta un peso constante (P2), una vez finalizado este paso, se procedió a moler el residuo de un crisol en un motero, se pesaron 100 mg por duplicado para la determinación de proteína por método de Kjendahl, mientras que del crisol restante se calcinó el residuo a 450°C durante 5 horas. Finalmente, se enfrió y se pesó hasta peso constante (P3).

El porcentaje de fibra dietaria total se calculó por la siguiente fórmula

$$^{(1)} \text{ FDT} = \frac{(P2-P1)-P}{P_m} \times 100$$

Donde P: proteína calculada por Kjeldahl; P<sub>m</sub>: peso inicial de muestra.

### **9.3.9 Fibra cruda total**

Para la determinación de fibra cruda total se pesaron de 2 a 3 g de muestra desengrasada y seca y se colocaron en un matraz y se añadieron 20 mL de solución de ácido sulfúrico 0.225 N en ebullición, posteriormente se colocó el condensador y se llevó a ebullición en un minuto, se dejó hervir durante 30 min y se mantuvo a un volumen constante de agua destilada moviendo periódicamente el matraz para remover las partículas adheridas a las paredes. Una vez transcurrido este tiempo, la muestra se filtró y se lavó con agua hirviendo. Seguido a esto, se transfirió el residuo al matraz conteniendo 200 mL de una solución de NaOH en ebullición y se dejó hervir durante 30 min, se filtró la muestra y se realizó otro lavado con agua hirviendo, con HCl y con un tercer lavado de agua hirviendo, para terminar con tres lavados con éter de petróleo. Se colocó el crisol en el horno a 105 °C durante 12 horas, una vez transcurrido este tiempo, los crisoles se enfriaron en desecador y se registró el peso de cada uno de ellos para así colocarlos en mufla a 550°C por 3 horas, finalmente se

enfriaron en desecador y se registró nuevamente el peso final. El porcentaje de fibra se calculó en base a la siguiente fórmula:

$$^{(2)} \quad \% \text{ Fibra cruda } 100((A-B)/C)$$

Donde A: Peso del crisol con el residuo seco (g), B: Peso del crisol con la ceniza (g), C: Peso de la muestra (g).

### **9.3.11 Análisis sensorial**

El sensorial se obtuvo por medio de una encuesta realizada a 20 personas, en la que se evaluaron los atributos color, olor, sabor, consistencia y agrado general, mediante una encuesta realizada a 20 personas por una escala hedónica del 1 al 9, donde 1 era igual a me disgusta muchísimo, 2 me disgusta mucho, 3 me disgusta bastante, 4 me disgusta ligeramente, 5 no me gusta ni me disgusta, 6 me gusta ligeramente, 7 me gusta bastante, 8 me gusta mucho y 9 me gusta muchísimo (Anexo 1). Los datos obtenidos se analizaron con una prueba de Chi-cuadrada ( $X^2$ ) para análisis no paramétricos (Olivas-Gastélum et al., 2009).

### **9.3.12 Composición fisicoquímica**

#### **9.3.13 Acidez titulable y pH (AOAC 981.12, AOAC 942.15)**

La acidez titulable fue determinada de acuerdo a la metodología descrita por Rodríguez-Salinas et al., (2018), se tomaron 20 mL de muestra en un matraz Erlenmeyer y se diluyeron agregando dos veces su volumen con agua destilada. Se añadieron 3 gotas de solución de fenolftaleína y se tituló con hidróxido de sodio 0.1 N hasta la aparición de un color rosado que persistió de 15 a 30 s. El porcentaje de acidez titulable se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$^{(1)} \quad \text{Acidez \%} = \frac{V \times N \times 0.067}{M} \times 100$$

Donde V= Volumen de solución de hidróxido de sodio 0.1 N gastado en la titulación de la muestra; N= Normalidad de la solución de hidróxido de sodio; M= Volumen de la muestra en mL; 0.067= Equivalente del ácido málico.

El pH se midió con un potenciómetro Corning 440, ajustado con buffer de pH 4 y pH 10. El electrodo del potenciómetro fue sumergido en la muestra y se registró el valor.

#### **9.3.14 Sólidos solubles totales (AOAC 983.17)**

Los sólidos solubles totales se midieron con un refractómetro Atago, Master-M 2314, (Japón). Se colocó el refractómetro en una posición tal que pudiera difundir la luz natural o cualquier otra forma de luz artificial que pudiera causar interferencia. Se ajustó el refractómetro a 0 con agua destilada, posteriormente, se abrió la cobertura correspondiente y se colocaron unas gotas de muestra sobre el prisma. Finalmente, se ajustó la línea margen y se leyó directamente el porcentaje de sólidos en la escala °Brix.

#### **9.3.15 Color**

Para la determinación de color se utilizó la técnica reportada por Rodríguez-Salinas et al., (2019). Se utilizó un lector de color Konica Minolta CR-20 (Tokio, Japón). Los parámetros se obtuvieron utilizando los sistemas de color CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) y CIELCH ( $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h$ ) de acuerdo con la Comisión Internacional de Iluminación.

**Objetivo 2.** Realizar un análisis microbiológico de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) en condiciones de almacenamiento

#### **9.3.16 Análisis microbiológico**

Se tomó una alícuota de 1 mL de bebida y se agregaron 10 mL del medio de cultivo a cada caja petri, se mezcló 8 veces de manera circular cada placa sembrada (izquierda-derecha, arriba-abajo); para mesofílicos aerobios se utilizó agar para cuenta en placa y se incubó a 37°C por 24 horas, mientras que las bacterias psicrotóficas se incubaron a 4°C durante 48 horas en el mismo agar. Para bacterias ácido-lácticas se utilizó agar MRS (Man-Rogosa-Sharpe) y fueron incubadas a 37°C por 24 h. Las enterobacterias fueron sembradas en agar RVBA (Agar Bilis Rojo Violeta) y se incubaron a 37°C por 24 h. Para determinar hongos y levaduras se utilizó agar PDA con ácido tartárico al 10% (Potato Dextrose Agar) a 25°C por 48 horas (NOM-210-SSA1-2014).

**Objetivo 3.** Determinar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en la bebida de maíz morado.

#### **9.3.17 Compuestos fenólicos**

#### **9.3.18 Preparación de extracto libre**

De la bebida preparada se requirió 300 mL, los cuales se dividieron en 3 muestras iguales de 100 mL y se llevaron a centrifugar a 4500 rpm durante 5 min, el sobrenadante se recuperó para su posterior análisis (Niño-Medina et al., 2017).

#### **9.3.19 Preparación de extracto ligado**

En tubos de ensayo con tapa de rosca se agregaron 9 mL de hidróxido de sodio (2 N) a 2.5 mL de la bebida, los cuales se purgaron con gas nitrógeno 30 s, se cerraron y se agitaron durante 2 h a temperatura ambiente. Transcurridas las dos horas, se detuvo la reacción ajustando el pH a 1 con HCl, se extrajeron los compuestos fenólicos, producto de la hidrólisis, agregando éter dietílico con 3 lavados de 3 mL, se agitó la muestra durante 1 min, posteriormente se centrifugó



a 4500 rpm durante 5 min entre cada lavado y se recuperó la fase dietílica. El éter dietílico se evaporó en rotavapor y el residuo se suspendió 2.5 mL de metanol al 80% (Niño-Medina et al., 2017).

### 9.3.20 Fenoles totales

Los fenoles totales fueron determinados mediante un método colorimétrico basado en la reacción de Folin-Ciocalteu. Se agregaron 0.2 mL de muestra (libre o ligada) en 2.6 mL de agua destilada, la reacción se llevó a cabo con 0.2 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu durante 5 minutos y agregaron 2 mL de una solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7%. Se dejó actuar durante 90 min y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro Barnstead Turner SP-830 a 750 nm (López-Contreras et al., 2015). Se utilizó ácido gálico como estándar (0 a 200 mg/L) y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por litro de muestra (mg GAE/L) utilizando una ecuación lineal obtenida de la curva de calibración.

- El cálculo de fenoles totales se realizó con la sumatoria de los valores obtenidos para compuestos fenólicos libres más lo compuestos fenólicos ligados.
- El cálculo del porcentaje para la fracción libre o ligada se determinó por la siguiente fórmula.

$$^{(3)} \text{ \% de fracción ligada } \frac{A}{B} \times 100$$

Donde “A” es el valor obtenido de compuestos fenólicos libres o ligados; “B” es el valor obtenido para compuestos fenólicos totales.

### 9.3.21 Flavonoides

El contenido total de flavonoides se evaluó en base a la reacción de cloruro de aluminio. Se colocaron 0.2 mL de extracto (libre o ligado) en 3.5 mL de agua destilada, se le agregaron 0.15 mL de  $\text{NaNO}_2$  al 5%, se dejaron reposar 5 min.

Transcurrido los 5 minutos, se agregaron 0.15 mL de  $\text{AlCl}_3$  al 10% dejando reaccionar 5 min más, posterior a esto se le añadió 1.0 mL de  $\text{NaOH}$  1 M, se dejó en reposo en la oscuridad por 15 min y se leyó en un espectrofotómetro Barnstead Turner SP-830 a longitud de onda de 510 nm (López-Contreras et al., 2015). Se utilizó catequinas como estándar (0 a 200 mg/L) y los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de catequinas por litro de muestra (mg ECat/L) utilizando una ecuación lineal.

- El cálculo de flavonoides totales se realizó con la sumatoria de flavonoides libres más lo flavonoides ligados.
- Se utilizó la ecuación 9 para calcular porcentaje de flavonoides libres y ligados.

#### **9.3.22 Taninos condensados**

El contenido de taninos condensados se determinó mezclando 0.25 mL de muestra con 0.65 mL de una solución de vainillina al 1% y 0.65 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 25% (ambos disueltos en metanol). La reacción se dejó actuar durante 15 min a  $30^\circ\text{C}$  y se midió la absorbancia en espectrofotómetro Barnstead Turner SP-830 500 nm. Se utilizó catequinas como estándar (0 a 200 mg/L) y los resultados fueron expresados en miligramos equivalentes de catequinas por litro de muestra (mgCatE/L) (López-Contreras et al., 2015).

#### **9.3.23 Antocianinas**

Para la cuantificación de antocianinas se colocó muestra en una relación 1:1 (muestra + solución etanólica 96% a pH 1) en tubos de ensayo y se extrajo el oxígeno con gas nitrógeno, seguido a esto se agitó durante 30 min a  $4^\circ\text{C}$ , posteriormente, se centrifugó a 6000 rpm a  $4^\circ\text{C}/15$  min, se tomó el sobrenadante y se leyó la absorbancia a 535 nm, ajustando el espectrofotómetro con etanol

acidificado. El contenido total de antocianinas fue reportado como miligramos de cianidin-3-glucosido por litro de muestra (mg EC3G/L) (Loa y Giusti, 2016).

La concentración de antocianinas se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$^{(4)} \quad (A/\epsilon) \cdot (V/1000) \cdot MW / (\text{peso de la muestra}) \cdot 10^6$$

Donde “A” representa la absorbancia de la muestra, “ $\epsilon$ ” la molaridad de la absorbancia (mg C3G3= 26965/cm x mol), “V” el volumen de la muestra, “MW” el peso molecular de C3G (449.2 g/mol).

#### **9.3.24 Capacidad antioxidante**

Se utilizó Trolox como estándar (0 a 500  $\mu\text{mol/L}$ ) y los resultados se expresaron como micromoles de equivalentes de Trolox por litro de muestra ( $\mu\text{molTE/L}$ ) utilizando una ecuación lineal. Se emplearon los extractos libres y ligados para la cuantificación por las tres técnicas.

#### **9.3.25 ABTS (ácido 3-etil-benzotiazolina-6-sulfónico)**

El catión de ABTS, se preparó llevando a cabo una solución a una concentración de 7 mM, 1 mL de  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  al 2.6 mM y 1 mL de agua destilada, posteriormente se dejó reaccionar durante 12 h en la oscuridad a 7°C. Transcurrido este tiempo se ajustó la absorbancia de la solución a 1 a una longitud de onda de 734 nm, con metanol al 80%. Se tomaron 50  $\mu\text{L}$  de muestra libre o ligada (para la fracción ligada se utilizó una relación 1:4 de muestra en metanol al 80%), se añadieron 1.5 mL de ABTS y se dejaron actuar durante 30 min en la oscuridad, finalmente, se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro Barnstead Turner SP-830 a una absorbancia de 734 nm (López-Contreras et al., 2015).

- El cálculo de capacidad antioxidante total por ABTS se realizó con la sumatoria del valor obtenido en la fracción libre más lo obtenido en la fracción ligada.

- Se realizó el cálculo de porcentaje para la capacidad antioxidante libre o ligada empleando la ecuación 9.

#### **9.3.26 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)**

Se preparó una solución madre de DPPH a una concentración de 60  $\mu$ M en metanol al 80%, la cual se ajustó a 1 a una longitud de onda de 517 nm. El ensayo se llevó a cabo mezclando 0.05 mL de fracción libre o ligada (para la fracción ligada se utilizó una relación 1:4 de muestra en metanol al 80%) y 1.5 mL de reactivo de DPPH, se dejó actuar durante 30 min en la oscuridad y se leyó la absorbancia en espectrofotómetro Barnstead Turner SP-830 a 517 nm (López-Contreras et al., 2015).

- Se realizó el cálculo de porcentaje para la capacidad antioxidante libre o ligada empleando la ecuación 9.

#### **9.3.27 FRAP (Poder Férrico Reductor de Antioxidantes)**

FRAP se determinó utilizando una solución madre mezclando a una concentración de 300 mM de  $C_2H_3NaO_2$ , 0.0156 g de TPTZ (2, 4,5 tripiridil-s-triazina) y 0.27 g de  $FeCl_3$ . Se colocaron los reactivos a baño maría a 37°C, durante 30 min, después se mezclaron los reactivos empezando por el  $C_2H_3NaO_2$  y el TPTZ, se agitó ligeramente y se añadió el  $FeCl_3$ , posteriormente se tomó 0.2 mL de extracto libre o ligado (para la fracción ligada se utilizó una relación 1:4 de muestra en metanol al 80%) y se añadió 3.3 mL de la solución madre FRAP, se dejó reaccionar durante 30 min en la oscuridad a 37°C y se leyó la absorbancia en espectrofotómetro Barnstead Turner SP-830 a 593 nm (López-Contreras et al., 2015).

- Se realizó el cálculo de porcentaje para la capacidad antioxidante libre o ligada empleando la ecuación 9.

## **9.4 Fase experimental fase II**

**Objetivo 4.** Evaluación del efecto antioxidante tras el consumo de la bebida a base de maíz morado.

### **9.4.1 Cálculo de la muestra**

El tamaño de la muestra de este estudio se calculó considerando la capacidad antioxidante en sangre por el método de FRAP (Balisterio et al., 2017) como la principal variable. Con un índice de confianza bilateral de 95% ( $\alpha = 0.05$ ) y una potencia estadística de 80% ( $\beta = 0.80$ ). El tamaño de la muestra se estimó en 10 sujetos por grupo (control y estudio) considerando una posible tasa de abandono del 15% (García-García et al., 2013).

Para este estudio se consideraron los siguientes criterios para la selección de los participantes:

### **9.4.2 Criterios de inclusión**

- Pacientes aparentemente sanos.
- No fumadores.
- No tomar medicamentos o suplementos alimenticios.
- No embarazadas y/o periodo de lactación.

### **9.4.3 Criterios de exclusión**

- Pacientes fumadores.
- Persona que consuman medicamentos o suplementos alimenticios.
- Mujeres embarazadas y/o en período de lactancia.
- Fuera de rango de edad (20 – 40 años).
- Fuera de los rangos de IMC saludable.

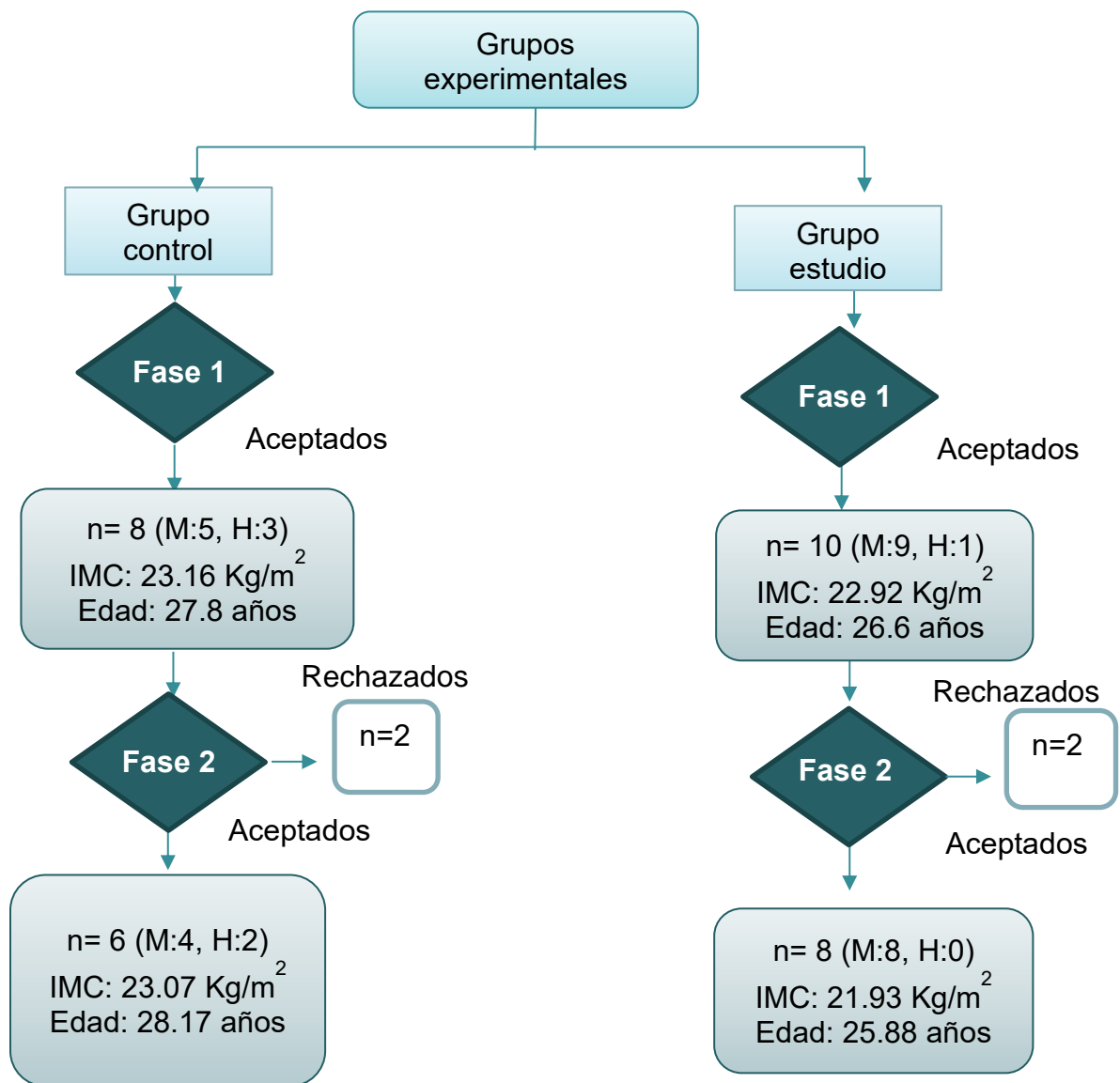
#### **9.4.4 Criterios de eliminación**

- Participantes que hayan perdido el seguimiento durante el periodo de lavado (dieta baja en compuestos fenólicos).

#### **9.4.5 Diseño del estudio fase II**

El estudio fue aleatorizado, doble ciego, con placebo controlado. Un total de 18 participantes en normo peso, fueron reclutados por redes sociales para el estudio, se agendaron para una primera cita en la que se obtuvo datos para el cálculo de IMC, se les realizó una frecuencia alimentaria, recordatorio de 24 hrs y se les compartió el consentimiento informado el cual firmaron una vez que aceptaron participar en el protocolo. Se asignaron dos grupos de 8 participantes para el grupo control y 10 para el grupo estudio, en el que cada grupo ingirió 450 mL de la bebida a base de maíz morado o la bebida control (bebida a base de maíz blanco) (Chew et al., 2018). Una vez evaluados y habiendo cumplido con los criterios de inclusión se les proporcionó una dieta baja en polifenoles (Anexo 14.2 y 14.3) que siguieron durante 7 días previos al estudio. Al octavo día, con 12 hrs de ayuno, los sujetos fueron citados y se les insertó un catéter intravenoso en la mano para la extracción de sangre correspondiente al estudio. La primera toma fue previa al consumo de la bebida, dependiendo del grupo al que fue asignado (control o estudio) (basal o T0). Después, se consumió la bebida y se recolectó sangre a la hora 1, 2 y 3 posterior a la bebida (Haddad et al., 2014).

**Figura 6.** *Diseño de estudio fase II*



#### **9.4.6 Preparación de la muestra de sangre**

Se recolectaron muestras de sangre (5-10 mL) en vacutainers con EDTA y se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min, una vez producida la separación en la muestra, se recolectó el plasma. Finalmente se almacenaron a -80° C hasta su análisis (Haddad et al., 2014).

#### **9.4.7 Medición de la capacidad antioxidante**

##### **9.4.8 FRAP**

La capacidad antioxidante del plasma se determinó mediante el ensayo FRAP en una reacción colorimétrica. 30 µL de plasma se incubó a temperatura ambiente con 220 µL de reactivo FRAP y se registró la absorbancia por espectrofotometría a una longitud de onda de 593 nm. Se utilizó Trolox como estándar y los resultados se expresaron en µmol equivalentes de Trolox (ET) por litro (Haddad et al., 2014).

##### **9.4.9 DPPH 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo**

Se determinó la capacidad de eliminación de antioxidantes hacia el compuesto estable del radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo). Para la preparación de la muestra se mezcló una parte de plasma (100 µL) con 400 µL de metanol y después de agitar en vórtex, los tubos se centrifugaron a 10,000 rpm durante 10 min a 4°C. Se añadieron 20 µL de muestra a 350 µL de reactivo DPPH (0.127 mol/L de metanol) bajo agitación durante 30 s, los tubos se incubaron bajo condiciones de oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min. Trolox se utilizó de forma estándar y los resultados se expresan en µmol equivalentes de Trolox (ET) por litro (Gouda et al., 2016).



#### **9.4.10 F2-Isoprostano (F2-IsoPs)**

Se usó una parte de NaOH al 10 N y 4 partes de muestra, se cubrieron las muestras y se agitaron a 45°C durante 2 h, transcurrido este tiempo las muestras se enfriaron y se neutralizaron añadiendo 100 µL de HCl al 12.1 N por cada 500 µL del hidrolizado, seguido a esto las muestras se centrifugaron durante 5 min a 14,000 rpm en una microcentrifuga, el sobrenadante obtenido fue el que se utilizó para el análisis. Para el ensayo ELISA se siguió la metodología indicada por el proveedor abcam® (Ademowo et al., 2017).

#### **9.4.11 LDL-oxidada**

Se prepararon los reactivos (Anticuerpo LDLox humano biotinilado, enzima conjugada, solución buffer) para realizar la curva de estandarización, seguido a esto, se pasó al analisis de muestra en donde, en primer lugar se añadió 100 mL de muestra/estándares, se sellaron y se incubaron a 73°C durante 90 min. Después de este tiempo, se lavó el plato del ELISA 2 veces, para así añadir 100 mL del anticuerpo LALD, se sello con cinta y se incubó a 37°C durante 60 min. Transcurrido este tiempo se lavó el plato 3 veces, para así añadir 100 mL de la enzima conjugada a los pocillos, excepto al blanco y se selló la placa con cinta adhesiva, para posteriormente lavar 5 veces el plato. Así se añadió 100 mL de reactivo colorante a los pocillos, se incubó a 37°C en oscuridad durante 30 min, se añadió 100 mL de reactivo colorante, se mezclaron y se leyó a 450 nm. (KIT Mercodia Oxidized LDL ELISA) (Davinelli et al., 2015).

### **10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

La estabilidad a través del tiempo de los compuestos de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) fueron evaluados utilizando ANOVA para una sola muestra y una prueba PostHoc de Tukey.

Los efectos sobre el cambio desde los valores iniciales (Basal) a la 1, 2, 3 y 5 h se evaluaron utilizando una prueba de ANOVA para muestras repetidas y una T-Student para pruebas individuales, entre el grupo control y el grupo experimental (dosis y tiempo como los efectos principales) y (el cambio desde el inicio como la variable dependiente).

(IBM SPSS versión 24, IBM Corp, Armonk, NY, Estados Unidos) y la prueba de significación estadística de dos colas se estableció en  $\alpha = 0.05$ .

## **11. CONDICIONES DE BIOSEGURIDAD**

Se siguieron las condiciones de bioseguridad indicadas por el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (2005), tomando en cuenta los siguientes puntos:

### **11.1 Manejo de desechos**

Todos los desechos químicos tóxicos se almacenaron en contenedores debidamente etiquetados y mantenidos en un lugar específico del laboratorio, mientras se removían del área por personal especializado.

### **11.2 Objetos cortantes y punzantes**

Las agujas se desecharon después de utilizarlas. Los materiales utilizados se colocaron en un contenedor específico para eliminarlos. Jeringas, con o sin aguja utilizadas, se introdujeron a recipientes para desecharlas, sin llenarlos por completo. Una vez finalizado el proceso, se identificó el recipiente con la leyenda “desechos infecciosos”, se incineraron o esterilizaron. Los recipientes no fueron desechados en vertederos.

## 12. ÉTICA

Los procedimientos que se llevaron a cabo durante este estudio se realizaron bajo el cumplimiento del REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y lineamientos del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud. Se hizo llegar una carta de consentimiento informado a los participantes (Anexo 14.4).

## 13. RESULTADOS

### 13.1 Fase experimental I

**Objetivo 1.** Caracterizar la composición nutricional y fisicoquímica de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*).

#### 13.1.1 Composición proximal

La Tabla 8 presenta la composición proximal de la bebida a base de maíz morado, la cual se caracterizó de 1.00% de ceniza, 2.64% de humedad, 2.79% de grasa, 1.00% de fibra cruda, 1.39% de proteína y 92.56% de carbohidratos totales.

**Tabla 8.** *Composición proximal (%)*

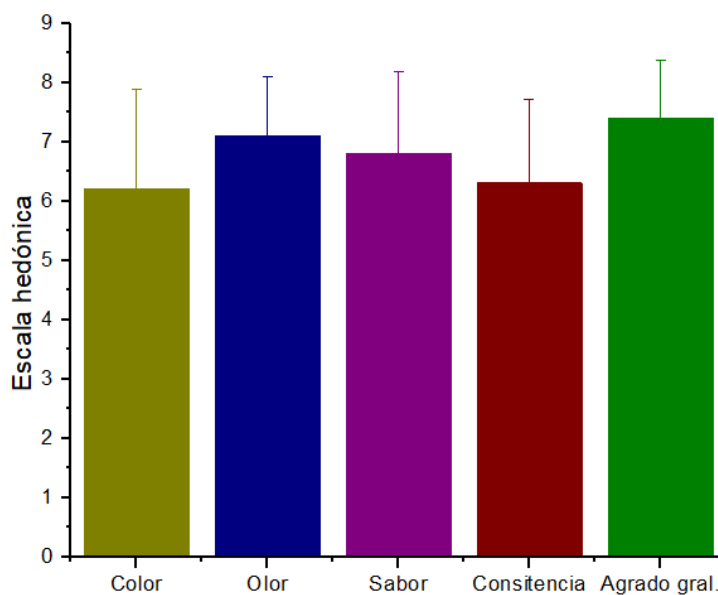
Cenizas	Humedad	Grasa	Fibra cruda	Proteína	Carbohidratos totales
1.00 ±0.19	2.64 ±0.06	2.79 ±0.06	1.00 ±0.04	1.39 ±0.09	91.18 ±0.06

*Nota.* Los resultados son presentados en medias ± DE

### 13.1.2 Análisis sensorial

El sensorial se obtuvo por medio de una encuesta en la que se evaluaron los atributos color, olor, sabor, consistencia y agrado general. Para el atributo color se obtuvo un promedio de 6.20, es decir que fue de agrado ligero, para el olor se obtuvo un promedio de 7.20 que de acuerdo a la escala se puede decir que agradó bastante, para el atributo de sabor se obtuvo un promedio de 6.8, consistencia 6.3 y en cuanto al agrado general se obtuvo un promedio de 7.4, lo que indica que la formulación agradó bastante en un concepto general (Figura 7).

**Figura 7.** *Análisis sensorial de la bebida a base de maíz morado*



*Nota.* Resultados de cuestionario en escala hedónica presentados en medias  $\pm$  DE (n=10).

### 13.1.3 Composición fisicoquímica

#### 13.1.3.1 pH, acidez titulable.

El pH, acidez titulable y sólidos solubles totales son presentados en la Tabla 9, se pudo observar un aumento significativo ( $P<0.05$ ) en el porcentaje de acidez del día 0 al día 4 ( $0.02 \pm 0.00$  -  $0.03 \pm 0.02\%$ ), permaneciendo estable hasta el día 30. Por otro lado, el pH disminuyó significativamente ( $P<0.05$ ) del día 4 al día 8 ( $6.16 \pm 0.03$  -  $6.01 \pm 0.01$ ), manteniéndose estable hasta el día 30.

#### 13.1.3.2 Sólidos solubles totales

Así mismo, el contenido total de sólidos solubles totales permaneció estable durante los 30 días de almacenamiento.

**Tabla 9.** Composición fisicoquímica de la bebida a base de maíz morado

Día	%Acidez	pH	Sólidos solubles totales
0	$0.02 \pm 0.00^a$	$6.16 \pm 0.03^a$	$2.30 \pm 0.00^a$
4	$0.03 \pm 0.02^b$	$6.15 \pm 0.01^a$	$2.30 \pm 0.00^a$
8	$0.03 \pm 0.03^b$	$6.01 \pm 0.01^b$	$2.20 \pm 0.00^a$
12	$0.03 \pm 0.03^b$	$6.00 \pm 0.04^b$	$2.20 \pm 0.00^a$
16	$0.03 \pm 0.03^b$	$6.00 \pm 0.01^b$	$2.20 \pm 0.00^a$
30	$0.03 \pm 0.03^b$	$6.00 \pm 0.00^b$	$2.20 \pm 0.00^a$

*Nota.* Medias separadas en columnas por los principales efectos de la prueba de Tukey. Los números seguidos de diferente letra son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ).

#### 13.1.3.3 Color

La Tabla 10 muestra los resultados obtenidos, se puede observar que no hubo cambios significativos durante los 30 días de almacenamiento a 4°C. Se puede observar que la luminosidad ( $L^*$ ) se mantuvo estable durante los 30 días de almacenamiento ( $28.70 \pm 1.23$  -  $29.80 \pm 0.62$ ) sin cambios significativos ( $P < 0.05$ ). Para el ángulo  $b^*$  (indica los colores amarillos) se pudo observar que se mantuvo

estable durante los 30 días de almacenamiento ( $11.40 \pm 0.79$  -  $10.53 \pm 0.51$ ), si bien tuvo una mayor inclinación hacia el tono amarillo, no hubo diferencia significativa. El ángulo chroma ( $c^*$ ) no presentó cambios significativos durante el almacenamiento. Así mismo para el ángulo hue ( $h^*$ ) no hubo cambios durante los 30 días de almacenamiento, sin embargo, se pudo observar un aumento significativo en el día 4 ( $74.80 \pm 2.34$ ). Finalmente, el ángulo  $a^*$ , el cual mide las tonalidades cyan-magenta, disminuyó significativamente del día 0 al día 4 ( $4.33 \pm 0.25$  -  $3.23 \pm 0.58$ ) manteniéndose estable hasta el día 30.

**Tabla 10.** *Análisis de Color en la bebida de maíz*

Día	L*	a*	b*	c*	h*
<b>0</b>	$28.70 \pm 1.23^a$	$4.33 \pm 0.25^a$	$11.40 \pm 0.79^a$	$11.90 \pm 0.60^a$	$68.67 \pm 1.2^a$
<b>4</b>	$28.70 \pm 0.17^a$	$3.23 \pm 0.58^b$	$9.47 \pm 0.98^a$	$10.63 \pm 1.15^a$	$74.80 \pm 2.34^b$
<b>8</b>	$30.30 \pm 1.06^a$	$3.67 \pm 0.21^b$	$10.90 \pm 0.46^a$	$11.67 \pm 0.31^a$	$71.60 \pm 0.62^a$
<b>12</b>	$29.40 \pm 0.26^a$	$3.87 \pm 0.06^b$	$11.43 \pm 0.64^a$	$11.77 \pm 0.55^a$	$70.83 \pm 0.93^a$
<b>16</b>	$29.70 \pm 1.51^a$	$3.60 \pm 0.35^b$	$10.10 \pm 1.15^a$	$10.43 \pm 1.69^a$	$70.03 \pm 0.90^a$
<b>30</b>	$29.80 \pm 0.62^a$	$3.63 \pm 0.12^b$	$10.53 \pm 0.51^a$	$11.17 \pm 0.50^a$	$71.00 \pm 0.80^a$

*Nota.* Medias separadas en columnas por los principales efectos de la prueba de Tukey. L \*, luminosidad; a \*, enrojecimiento; b \*, amarillez.; c\*, cromaticidad; h\*, hue. Los números seguidos de diferente letra son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ).

**Objetivo 2.** Realizar un análisis microbiológico de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) en condiciones de almacenamiento.

#### 13.1.4 Análisis microbiológico

En la tabla 11 se puede observar los resultados del análisis microbiológico realizado en las muestras a través de los 30 días de almacenamiento, se puede destacar que no hubo crecimiento de bacterias psicrotrofas, coliformes totales, hongos y levaduras, bacterias ácido lácticas, así como la ausencia de *E. coli* y *Salmonella*. Sin embargo, se puede observar que durante los 30 días de

almacenamiento hubo una disminución significativa ( $P<0.05$ ), de la cuenta total para mesofílicos aerobios en condiciones de mercadeo (4°C).

**Tabla 11.** Resultados del análisis microbiológico

	D0	D4	D8	D12	D16	D30
<b>Mesofílicos aerobios UFC/g (CM)</b>	13 <sup>a</sup> ± 0.82	11 <sup>b</sup> ± 0.00	9.75 <sup>b</sup> ± 0.50	8.25 <sup>c</sup> ± 0.50	7.25 <sup>d</sup> ± 0.50	7.25 <sup>d</sup> ± 0.50
<b>Psicrótrofos</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Coliformes totales</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Hongos y levaduras</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Bacterias ácido lácticas</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b><i>E. coli</i></b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b><i>Salmonella</i></b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND

*Nota.* Crecimiento bacteriano durante 30 días de almacenamiento a 4°C. Los datos son reportados como medias ± DE (n=3). Los números seguidos de diferente letra son significativamente diferentes,  $P<0.05$  (ANOVA, comparación de medias por los efectos de Tukey).

**Objetivo 3.** Determinar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) en condiciones de almacenamiento.

### 13.1.5 Compuestos fenólicos totales, libres y ligado

Los compuestos fenólicos totales se presentan en la Tabla 12, donde se puede apreciar para el día 0 una concentración de  $199.15 \pm 14.57$  mg EAG/L, de los cuales el 58.44% forman parte de los compuestos fenólicos ligados y 41.33% de compuestos fenólicos libres (Figura 8). Posteriormente, para el día 4 se observó un aumento significativo del 46.41% de fenoles totales libres con una concentración de  $291.58 \pm 4.1$  mg EAG/L ( $P<0.05$ ), de los cuales el 48.90%

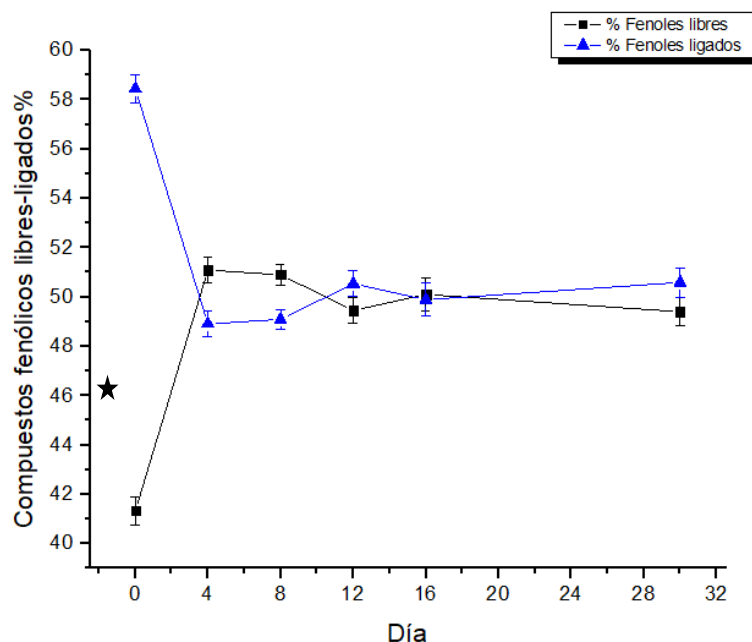
formaban parte de los compuestos ligados y 51.09% de compuestos libres, manteniéndose la concentración estable hasta el día 12.

**Tabla 12.** *Compuestos fenólicos totales*

Día	Fenoles totales*	Flavonoides totales**	Taninos**	Antocianinas***
0	199.15 ± 14.57 <sup>a</sup>	169.20 ± 7.07 <sup>a</sup>	13.22 ± 1.06 <sup>a</sup>	20.47 ± 0.63 <sup>a</sup>
4	291.58 ± 4.10 <sup>b</sup>	127.20 ± 3.61 <sup>b</sup>	7.77 ± 1.89 <sup>b</sup>	18.60 ± 1.77 <sup>ab</sup>
8	284.10 ± 5.76 <sup>bc</sup>	124.53 ± 1.53 <sup>b</sup>	8.26 ± 0.92 <sup>b</sup>	18.30 ± 0.39 <sup>b</sup>
12	278.34 ± 2.82 <sup>bc</sup>	125.20 ± 4.36 <sup>b</sup>	8.18 ± 0.37 <sup>b</sup>	18.63 ± 0.25 <sup>ab</sup>
16	274.91 ± 4.88 <sup>c</sup>	112.53 ± 0.58 <sup>c</sup>	8.18 ± 0.51 <sup>b</sup>	14.91 ± 1.02 <sup>c</sup>
30	263.29 ± 0.70 <sup>c</sup>	103.53 ± 3.51 <sup>c</sup>	8.10 ± 1.06 <sup>b</sup>	12.74 ± 0.25 <sup>d</sup>

*Nota.* Resultados expresados en \*mg EAG/L, \*\*mg ECat/L, \*\*\*mg EC3G/L. Medias ± DE, separadas en columnas por los principales efectos de la prueba de Tukey. Los números seguidos de diferente letra son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ).

**Figura 8.** *Porcentaje de compuestos libres o ligados*



*Nota.* Los datos son reportados como medias ± DE ( $n = 3$ ), B: Los datos son reportados como medias ± DE ( $n = 3$ ), (\*  $P < 0.05$  entre grupos usando Prueba T para muestras independientes).

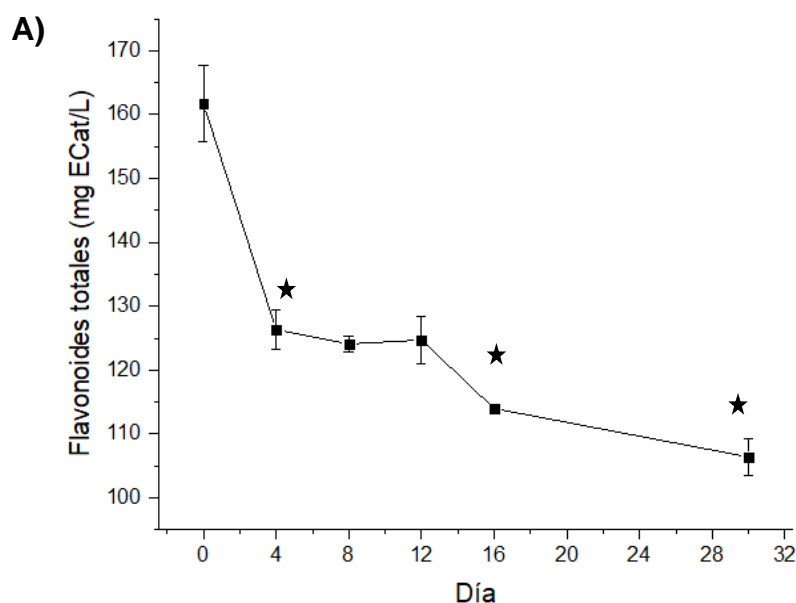


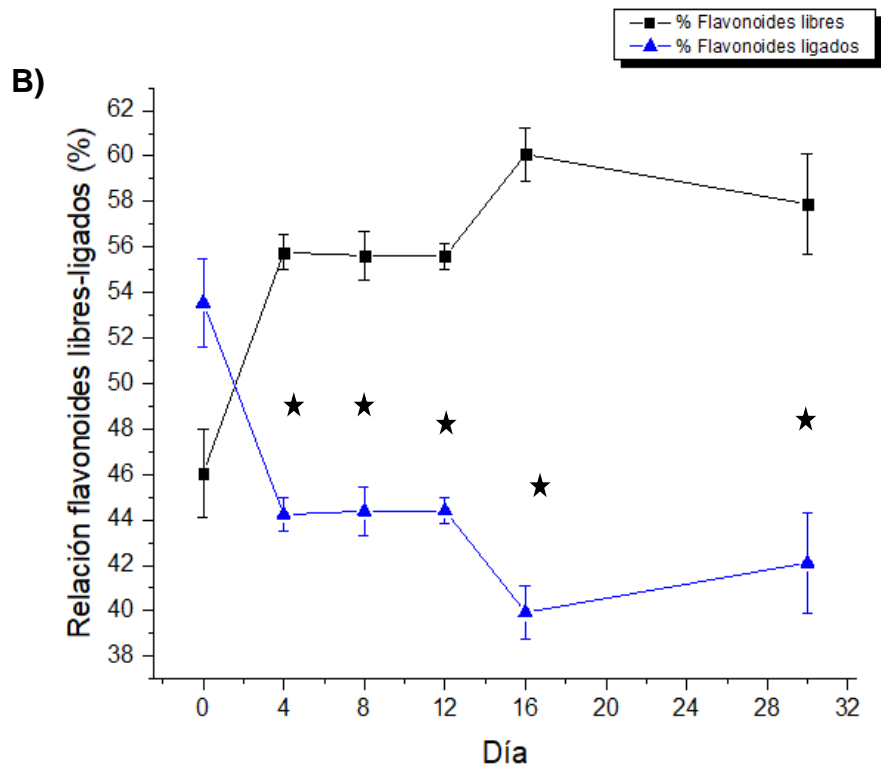
### 13.1.6 Flavonoides totales

En la tabla 12, se puede observar las fluctuaciones del contenido de flavonoides a través de los 30 días de almacenamiento en condiciones de mercadeo. Se puede apreciar el contenido total de flavonoides expresados en mg ECat/L, iniciando al día 0 con una concentración de  $169.20 \pm 7.07$  mg ECat/L, disminuyendo significativamente para el día 4 a una concentración de  $127.20 \pm 3.61$  mg ECat/L ( $P < 0.05$ ), la cual se mantuvo estable hasta el día 12 y finalmente tuvo una disminución de 38.81% para el día 30, comparado con la concentración inicial (Figura 9 A).

La relación de los flavonoides libres y los flavonoides ligados se puede observar en la Figura 9 B, presentando diferencia significativa entre ambas fracciones durante los 30 días de almacenamiento, los flavonoides libres tuvieron una tendencia a aumentar del día 0 al día 4 un 10% y una disminución del 10% de la fracción ligada, permaneciendo estable hasta el día 30.

**Figura 9.** A). *Flavonoides totales (mg ECat/L)*, B). *Porcentaje de flavonoides libres o ligados.*



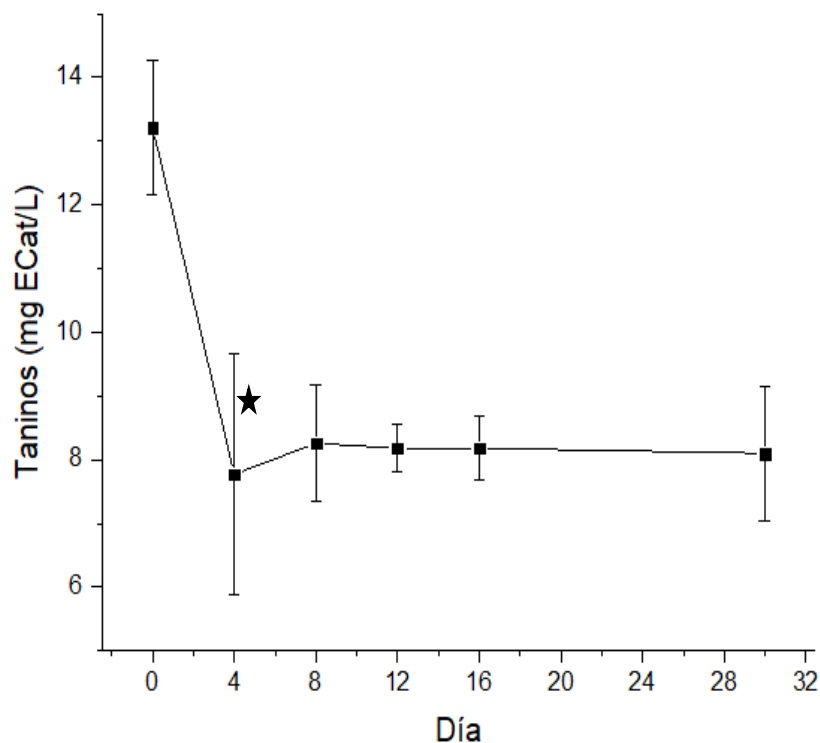


*Nota.* Los datos son reportados como medias  $\pm$  DE ( $n = 3$ ), (\*  $P < 0.05$  entre grupos, prueba T para muestras independientes).

### 13.1.7 Taninos condensados

El contenido de taninos se presenta en la Figura 10 donde se puede observar una disminución significativa del 41% del día 0 al día 4 ( $13.22 \pm 1.06$  a  $7.77 \pm 1.89$  mg ECat/L) ( $P < 0.05$ ) manteniéndose estable hasta el día 30, con un contenido de  $8.10 \pm 1.06$  mg ECat/L.

**Figura 10.** *Taninos condensados*

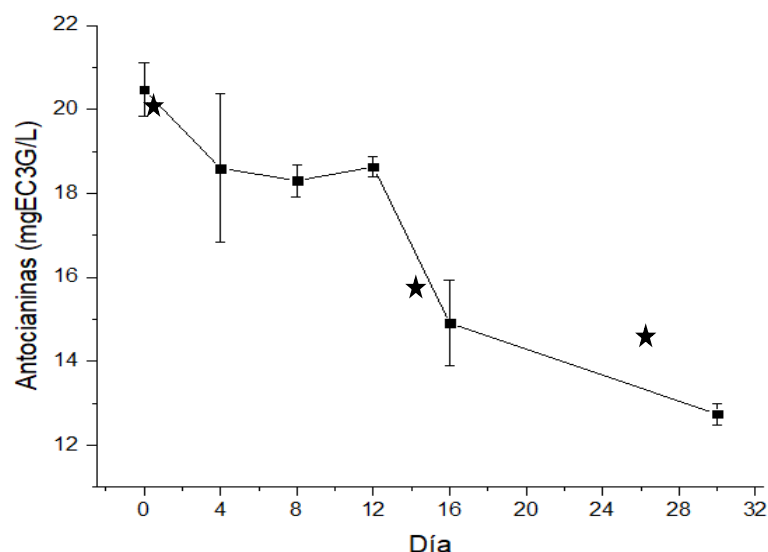


*Nota.* Los datos son reportados como medias  $\pm$  DE ( $n = 3$ ), ( $*P < 0.05$ , comparación de medias por los efectos de Tukey).

### 13.1.8 Antocianinas

El contenido de antocianinas a través del tiempo se puede observar en la figura 11, dónde se destaca una disminución significativa de un 9% del día 0 al día 4 ( $20.47 \pm 0.63$  a  $18.60 \pm 1.77$  mg EC3G/L) manteniéndose estable hasta el día 12, disminuyendo significativamente un 37.76% para el día 30 ( $P < 0.05$ ).

**Figura 11. Antocianinas**



*Nota.* Los datos son reportados como medias  $\pm$  DE ( $n = 3$ ), ( $*P < 0.05$ , comparación de medias por los efectos de Tukey).

### 13.1.9 Capacidad antioxidante

Los resultados de la capacidad antioxidante determinada por: ABTS, DPPH y FRAP, se presentan en la Tabla 13, para DPPH puede observar que hubo un aumento significativo del 90.84% del día 0 al día 4 por el método de DPPH ( $1555.83 \pm 23.57$  a  $2969.17 \pm 22.04$  mmol ET/L) ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ); de este aumento, el 26% se presentó en forma libre (Figura 12), después se pudo observar que hubo una disminución del 16% del día 4 al día 8 ( $2969.17$  a  $2466.67 \pm 3.53$  mmol ET/L), manteniéndose estable hasta el día 30 (16.86% en su forma libre). Por el método de ABTS hubo un aumento del 24.71% del día 0 al día 4 ( $2060.17 \pm 12.34$  a  $2569.17 \pm 0.58$  mmol ET/L), de este aumento el 24.20% se presentó en forma libre (figura 13), posteriormente, se observó una disminución progresiva hasta el día 30. Finalmente, por el método FRAP, se pudo observar que hubo una disminución significativa del 7.45% del día 0 al día 4 ( $3405.13 \pm 15.01$  -  $3151.13 \pm 5.77$  mmol ET/L) ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ), el 30% de esta disminución se presentó en forma libre, para el día 30 se observó una disminución de la capacidad antioxidante hasta un 13.68%.

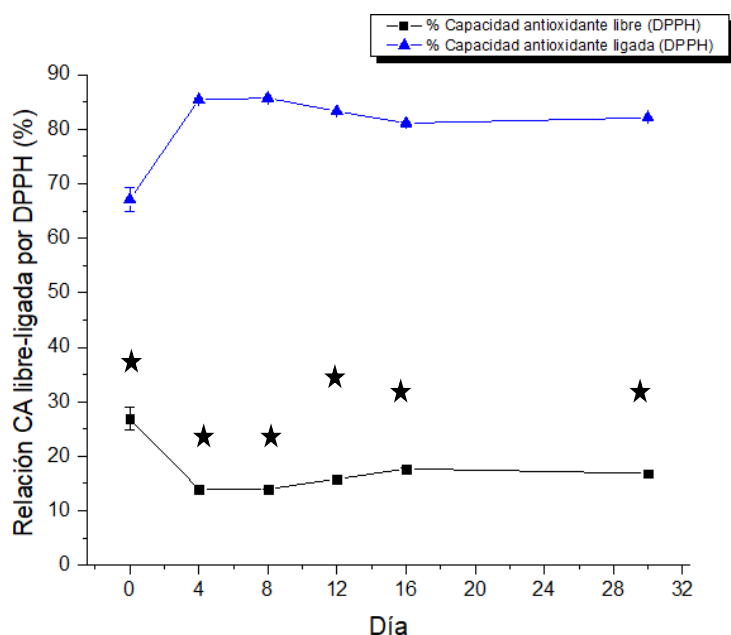
**Tabla 13.** Capacidad Antioxidante Total (mmol ET/L) de la bebida a base de maíz morado durante 30 días de almacenamiento

		Día de almacenamiento					
		0	4	8	12	16	30
<b>DPPH</b>	Libre	418.39 ± 47.62 <sup>a</sup>	415.61 ± 6.74 <sup>a</sup>	345.06 ± 11.09 <sup>b</sup>	337.83 ± 1.67 <sup>b</sup>	322.29 ± 3.47 <sup>b</sup>	296.17 ± 8.82 <sup>b</sup>
	Ligado	1091.33 ± 41.63 <sup>a</sup>	2553.56 ± 26.94 <sup>b</sup>	2231.33 ± 179.00 <sup>c</sup>	1811.33 ± 29.06 <sup>d</sup>	1498.00 ± 6.67 <sup>e</sup>	1460.22 ± 31.50 <sup>e</sup>
	<b>Total</b>	<b>1555.83 ± 23.57<sup>a</sup></b>	<b>2969.17 ± 22.04<sup>b</sup></b>	<b>2466.67 ± 3.53<sup>c</sup></b>	<b>2132.50 ± 7.07<sup>cd</sup></b>	<b>1820.28 ± 4.8<sup>d</sup></b>	<b>1756.39 ± 38.92<sup>d</sup></b>
<b>ABTS</b>	Libre	498.70 ± 5.29 <sup>a</sup>	474.37 ± 0.58 <sup>b</sup>	473.80 ± 0.85 <sup>b</sup>	468.70 ± 1.00 <sup>b</sup>	391.37 ± 3.51 <sup>c</sup>	359.03 ± 17.04 <sup>c</sup>
	Ligado	1560.67 ± 12.22 <sup>a</sup>	2553.56 ± 26.94 <sup>b</sup>	1698.80 ± 8.00 <sup>c</sup>	1662.80 ± 4.00 <sup>c</sup>	1654.80 ± 4.00 <sup>c</sup>	1092.13 ± 141.38 <sup>d</sup>
	<b>Total</b>	<b>2060.17 ± 12.34<sup>a</sup></b>	<b>2569.17 ± 0.58<sup>b</sup></b>	<b>2172.83 ± 07.50<sup>c</sup></b>	<b>2131.50 ± 5.00<sup>d</sup></b>	<b>2046.17 ± 0.58<sup>a</sup></b>	<b>1360.00 ± 17.68<sup>e</sup></b>
<b>FRAP</b>	Libre	1007.93 ± 19.00 <sup>a</sup>	974.30 ± 4.70 <sup>b</sup>	964.60 ± 07.21 <sup>b</sup>	910.60 ± 8.00 <sup>c</sup>	895.27 ± 5.03 <sup>c</sup>	849.93 ± 3.05 <sup>d</sup>
	Ligado	2397.00 ± 4.00 <sup>a</sup>	2094.80 ± 0.00 <sup>b</sup>	2173.20 ± 10.58 <sup>c</sup>	2146.53 ± 2.30 <sup>d</sup>	2143.87 ± 2.30 <sup>d</sup>	2089.20 ± 10.58 <sup>b</sup>
	<b>Total</b>	<b>3405.13 ± 15.01<sup>a</sup></b>	<b>3151.13 ± 5.77<sup>b</sup></b>	<b>3137.80 ± 8.72<sup>b</sup></b>	<b>3057.13 ± 8.33<sup>c</sup></b>	<b>3039.13 ± 5.77<sup>c</sup></b>	<b>2939.13 ± 12.70<sup>d</sup></b>

*Nota.* Medias ± DE, separadas en filas por los principales efectos de la prueba de Tukey. Los números seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ).

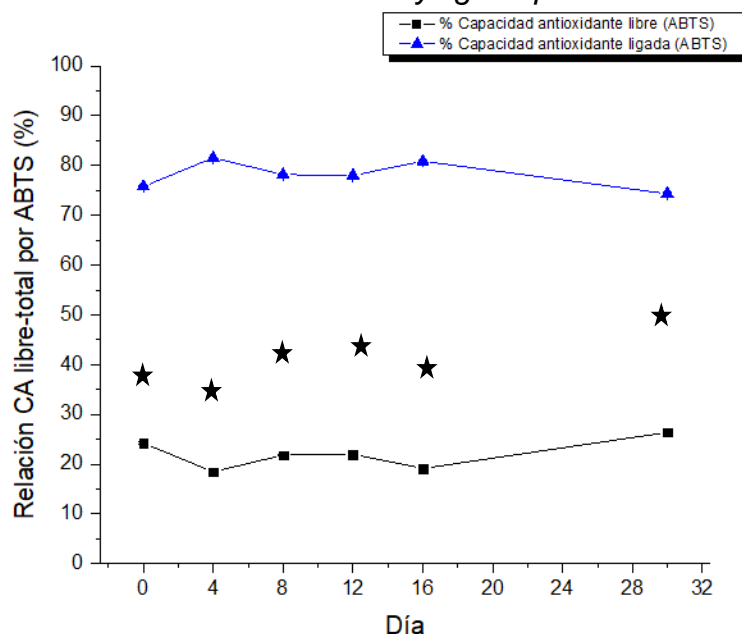
En la Figura 12 se presenta el porcentaje de capacidad antioxidante libre y ligada por el método de DPPH donde se puede observar que para el primer día el 26.89% de la capacidad antioxidante era proporcionada por la fracción libre disminuyendo 12% a partir del día 4 manteniéndose estable hasta el día 30. Mientras que por el método ABTS (Figura 13) el 24.20% pertenecía a la fracción libre y el 75.80% a la fracción ligada, permaneciendo así hasta el día 30. Finalmente, por el método FRAP (Figura 14) el 30% de la actividad antioxidante provenía de la fracción libre y el 70% de la fracción ligada, permaneciendo estos porcentajes hasta el día 30.

**Figra 12.** *Actividad atioxidante libre y ligada de la bebida a base de maiz morado por el método DPPH*



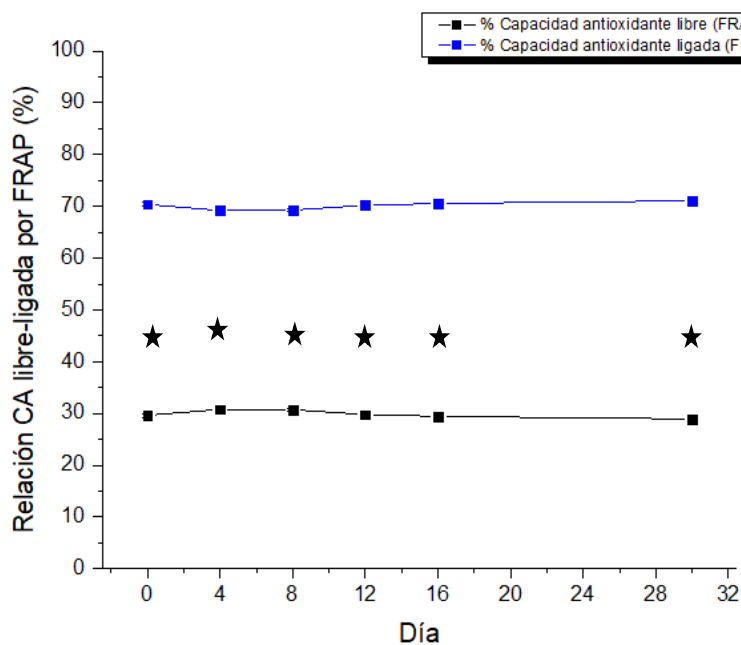
*Nota.* Los datos son reportados como medias  $\pm$  DE ( $n = 3$ ). (\*  $P < 0.05$ , prueba T para muestras independientes).

**Figura 13.** Actividad atioxidante libre y ligada por el método ABTS



*Nota.* Los datos son reportados como medias  $\pm$  DE ( $n = 3$ ). (\*  $P < 0.05$ , entre tratamientos mediante prueba T para muestras independientes).

**Figura 14.** Porcentaje de actividad atioxidante libre y ligada por el método FRAP expresada en porcentaje durante 30 días de almacenamiento.



*Nota.* Los datos son reportados como medias  $\pm$  DE ( $n = 3$ ). (\*  $P < 0.05$  entre tratamientos mediante la prueba T para muestras independientes).

## 13.2 Fase experimental II

**Objetivo 4.** Evaluar el efecto antioxidante de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) en un modelo *in vivo*.

### 13.2.1 Participantes

Un total de 18 participantes fueron reclutados para el presente estudio de acuerdo con el diagrama de flujo presentado en la Figura 6, dichos sujetos fueron asignados al azar a cada grupo: 8 participantes para el grupo control y 10 participantes para el grupo estudio, de los cuales 2 fueron excluidos del grupo control y 2 del grupo estudio por no cumplir con el período de lavado (dieta baja en polifenoles previa al estudio). Las características de los participantes son descritas en la Tabla 14. No se observaron efectos adversos después del consumo de las bebidas.

**Tabla 14.** Características generales de los participantes

	Grupo Control	Grupo Estudio
<b>Edad (años)</b>	28.17 ± 2.99	25.88 ± 1.30
<b>Género</b>	M:4, H: 2	M:8, H:0
<b>Estatura (cm)</b>	167.42 ± 4.30	157.56 ± 2.48
<b>Peso (kg)</b>	64.42 ± 2.45	54.76 ± 3.54
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	23.07 ± 0.93	21.93 ± 0.88

*Nota.* IMC. Índice de Masa Corporal, M. Mujeres, H. Hombres. Los valores son presentados como medias ± EEM (Media del error estándar) (Grupo control n=6, Grupo estudio n=8).

La composición fenólica de la bebida control y estudio son presentadas en la Tabla 15, se puede observar que la bebida control tiene un total de 81.00 mg



EAG/L y la bebida estudio 82.30 mg EAG/L, sin diferencia significativa. El contenido de flavonoides es significativamente mayor en la bebida estudio con 77.93 mg EC3G/L comparado con la bebida control (42.27 mg EC3G/L) ( $P<0.05$ ). Por otro lado, el contenido de taninos mostró diferencia significativa ( $P<0.05$ ) con un 13.22 mg ECat/L para la bebida estudio, mientras que la bebida control reportó un 8.42 mg ECat/L.

**Tabla 15.** Composición fenólica libre de bebida control y bebida estudio.

	Bebida control	Bebida estudio
<b>Fenoles libres *</b>	81.00 ± 0.63 <sup>a</sup>	82.30 ± 3.57 <sup>a</sup>
<b>Flavonoides libres **</b>	47.27 ± 1.53 <sup>a</sup>	77.93 ± 1.16 <sup>b</sup>
<b>Taninos **</b>	8.42 ± 0.99 <sup>a</sup>	13.22 ± 1.06 <sup>b</sup>
<b>Antocianinas ***</b>	0	20.50 ± 0.63 <sup>b</sup>

*Nota.* Resultados expresados en \*mg EAG/L, \*\*mg ECat/L, \*\*\*mg EC3G/L. Medias ± DE, separadas en filas por los principales efectos de la prueba de Tukey ( $p<0.05$ )  $n=3$ .

### 13.2.2 Capacidad antioxidante en plasma

La Figura 15 muestra el cambio postprandial antioxidante en plasma por el método de FRAP, a 180 minutos posteriores al consumo de la bebida control y la bebida estudio. Para el grupo control hubo una disminución significativa de la capacidad antioxidante en plasma de  $-222.73 \pm 126.30$   $\mu\text{mol ET/L}$  y  $-223.38 \pm 148.49$   $\mu\text{mol ET/L}$  al minuto 60 y 120 respectivamente ( $P<0.05$ ), después de la ingesta de la bebida respecto al tiempo 0 (Tabla 16). Finalmente, a pesar de que después de haber disminuido la respuesta antioxidante, ésta aumentó al minuto 180 reportando un  $-133.50 \pm 186.50$   $\mu\text{mol ET/L}$  sin ser estadísticamente

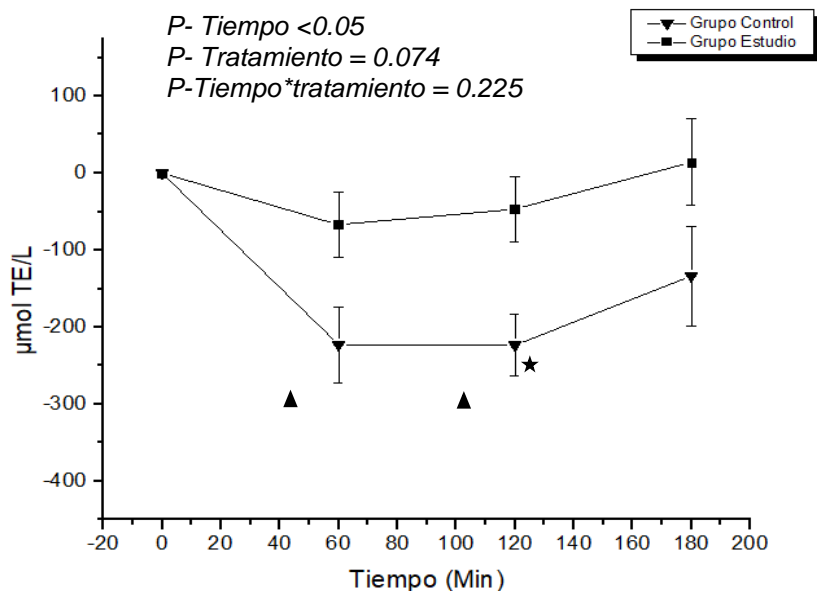
significativa. Por otro lado, el consumo de la bebida estudio no cambió significativamente la capacidad antioxidante en plasma; sin embargo, se pudo observar un pico máximo de capacidad antioxidante de  $14.30 \pm 120.21 \mu\text{mol ET/L}$  al minuto 180. El área bajo la curva (ABC) para FRAP del grupo control fue significativamente menor (4.8 veces) comparado con el ABC del grupo estudio presentando los siguientes valores:  $-30771.53 \pm 8095.42$  y  $-6395.45 \pm 3386.45$  respectivamente (Figura 16).

**Tabla 16.** Capacidad antioxidante plasmática postprandial por el método de FRAP expresado en ( $\mu\text{mol ET/L}$ ).

Grupo	Tiempo (min)				Total ABC
	0	60	120	180	
<b>Control</b>	$0.00 \pm 0.00^a$	$-222.73 \pm 126.30^b$	$-223.38 \pm 148.49^b$	$-133.50 \pm 186.50^a$	$-30771.53 \pm 8095.42^\dagger$
<b>Estudio</b>	$0.00 \pm 0.00^a$	$-67.00 \pm 56.51^a$	$-46.74 \pm 76.59^a$	$14.30 \pm 120.21^a$	$-6395.45 \pm 3386.45$

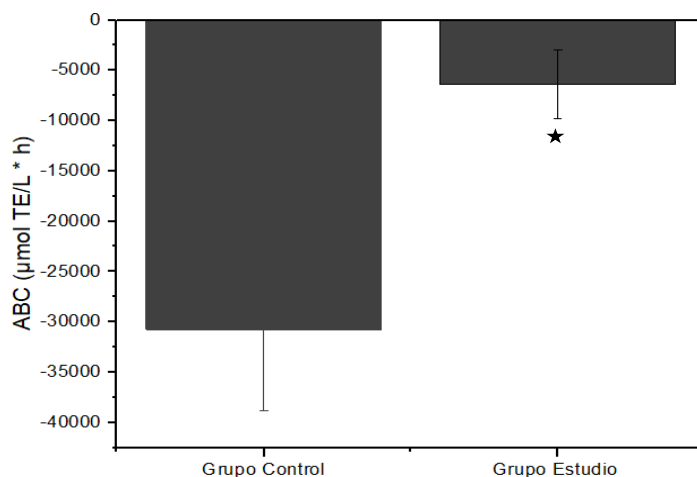
*Nota.* FRAP. Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (Por sus siglas en inglés); ABC. Área bajo de la curva. Los datos son reportados en filas como medias  $\pm$  EEM (Grupo control n = 6, grupo estudio n = 8). Los números seguidos de diferente letra son significativamente diferentes,  $P < 0.05$  (ANOVA repetido unidireccional, ajuste de Bonferroni). Los números seguidos por ( $\dagger$ ) representan una  $P < 0.05$  entre grupos (columnas) usando una prueba T para muestras independientes.

**Figura 15.** Perfil de respuesta antioxidante plasmático postprandial después de 180 minutos de la ingesta de la bebida control v estudio.



*Nota.* Los datos son reportados como medias  $\pm$  EEM, n grupo control= 6, n grupo estudio=8. El efecto del tiempo, tratamiento y tratamiento por tiempo fue analizado con ANOVA repetido unidireccional, ajuste de Bonferroni. (▲  $P < 0.05$  a través del tiempo), (\*  $P < 0.05$  entre tratamientos).

**Figura 16.** Área bajo la curva (ABC) expresada en  $\mu\text{mol TE/L}$  después de 3 h de la ingesta de la bebida control ( $n = 6$ ) y bebida estudio ( $n = 8$ ).



*Nota.* Los datos son reportados como medias  $\pm$  EEM. \*  $P < 0.05$  entre grupos, (Prueba T para muestras independientes).

### 13.2.3 Oxidación lipídica

Los resultados de la oxidación lipídica son presentados en la Tabla 17. En primer lugar, se observa que la lipoproteína de baja densidad oxidada (LDL-ox) postprandial aumentó tanto en el grupo control como en el grupo estudio ( $503.72 \pm 258.72$  y  $626.10 \pm 292.23$  pg/mL, respectivamente) sin diferencia significativa (Figura 19). Por otro lado, el marcador F2-isoprostano, presentó una tendencia a aumentar en el grupo control ( $2.56 \pm 13.89$  pg/mL), respecto al estado basal y a disminuir en el grupo estudio ( $-0.04 \pm 10.41$  pg/mL), no se presentó diferencia significativa entre tratamientos y a través del tiempo.

**Tabla 17.**  $\Delta$  LDL-ox y  $\Delta$  F2-Isoprostano tiempo 0 y 180 min después del consumo de la bebida.

Grupo	$\Delta$ LDL-ox (pg/mL)		$\Delta$ F2-Isoprostano (pg/mL)	
	0	180	0	180
<b>Control</b>	$0 \pm 0.00^a$	$503.72 \pm 258.72^a$	$0 \pm 0.00^a$	$2.56 \pm 13.89^a$
<b>Estudio</b>	$0 \pm 0.00^a$	$626.10 \pm 292.23^a$	$0 \pm 0.00^a$	$-0.04 \pm 10.41^a$

LDL-ox: Lipoproteína de baja densidad oxidada. Los datos son presentados como medias  $\pm$  EEM (LDL-ox n control= 5, n estudio=8), (F2-Isoprostano n control= 6, n estudio=6). Los números seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes, ( $P < 0.05$ , utilizando la Prueba T para muestras independientes).

## **14. DISCUSIONES**

### **14.1 Fase experimental I**

La fase experimental I englobó los objetivos 1, 2 y 3, con el propósito de caracterizar la bebida nutricional y fisicoquímica, así como del análisis de su estabilidad en condiciones de mercadeo (4°C), monitoreando su calidad microbiológica y fenólica durante 30 días de almacenamiento.

#### **14.1.1 Composición proximal**

Las bebidas elaboradas con cereales tienen un alto valor potencial como alimento funcional debido a su perfil antioxidante y composición nutrimental, la cual se caracteriza por proporcionar principalmente, fibra, carbohidratos y minerales (Kreisz, et al., 2008). Sin embargo, pueden llegar a reportarse valores bajos en proteínas y otros minerales como el calcio, por lo que en ocasiones se recurre a la suplementación de estas (Albanese & Meneguzzo, 2019). De acuerdo con lo observado, la composición proximal de la bebida fue de 1.00% de ceniza, 2.79% de grasa, 1.00% de fibra cruda, 1.39% de proteína y 92.46% de carbohidratos totales por cada 100 mL de bebida (peso seco), que, comparado con otras bebidas, se observa que tiene valores bajos en el contenido de proteína, sin embargo, tiene valor competitivo de fibra cruda. Por un lado. González-Amaro et al., (2014), en una bebida tradicional mexicana (Tejate) elaborada con maíz nixtamalizado, reportaron 7.25% de proteína, 2.3% de ceniza, 11.47% de grasa, 0.79% de fibra cruda y 78.20% de carbohidratos, mientras que Shendage, et al., (2019), reportaron una composición de 3.43% de proteína, 1.82% de grasa, 1.27% de fibra y 11.25% de carbohidratos. Como podemos observar, en nuestra bebida y las bebidas de los estudios, reportan valores altos en carbohidratos, debido a que la principal materia prima es representada por granos de cereales son ricos en carbohidratos, vitaminas, minerales y fibra dietaria, (Srikaeo, et al., 2020).

#### **14.1.2 pH, acidez y sólidos solubles totales**

De acuerdo con los resultados presentados en la Tabla 9, se puede decir que durante los primeros días de almacenamiento se presentaron cambios significativos para los parámetros acidez y pH, aumentando el 0.01% de acidez del día 0 al día 4 y por consiguiente se observó una disminución de 0.14 en el pH, manteniéndose estables el resto de los días de almacenamiento. Uno de los posibles motivos por los que se observó el aumento de acidez y disminución del pH se puede asociar al tratamiento térmico y la liberación de compuestos fenólicos durante el almacenamiento, por un lado, Singh et al., (2014) en una bebida de suero de guayaba en la que hubo una tendencia a aumentar el porcentaje de acidez, sin presentar diferencia significativa, la variación de acidez observada durante 30 días de almacenamiento fue de 0.05, mientras que el pH tuvo una disminución de 0.06, sin diferencia estadísticamente significativa ( $P<0.05$ ) sugiriendo que el tiempo y la temperatura de pasteurización (65°C durante 25 min) no afectó significativamente la acidez y el pH durante el almacenamiento. Sin embargo, Martínez-Flores et al., (2015), en una bebida de zanahoria del día 0 al día 20 observaron un aumento en la acidez del 0.51% y una disminución en el pH de 0.12, atribuyendo principalmente estos cambios a la interacción entre los compuestos fenólicos que están presentes en la matriz del alimento liberados por la acción de la temperatura de pasteurización a 58°C durante 10 min y la acción enzimática; es decir que los primeros días de almacenamiento son clave ya que hay una mayor interacción y liberación de los compuestos orgánicos que integran los ingredientes de la bebida.

Los resultados para este estudio indicaron que no hubo diferencia significativa en los sólidos solubles totales durante los 30 días de almacenamiento, es importante destacar que la estabilidad o el incremento mínimo de los sólidos solubles totales en bebidas son deseables para la preservación de una buena calidad en las bebidas, ya que el cambio de este parámetro está relacionado a la hidrólisis del contenido de polisacáridos en monosacáridos, por acción bacteriana (Bhardwaj & Pandey, 2011). Existen factores que pueden ayudar a preservar los alimentos para reducir la carga bacteriana en productos perecederos y que ayudan a

preservar las características fisicoquímicas, entre estas el contenido de sólidos solubles totales. Uno de estos factores es la temperatura de almacenamiento, Rehman et al., (2014) realizaron un estudio de estabilidad de bebidas de frutas durante 10 días de almacenamiento a 4°C, período en el que no se observó cambios significativos en el contenido total de sólidos solubles totales, sin embargo, observaron un incremento no significativo del día 16 al día 30 del 16.45 a 16.80 brix, respectivamente, atribuyendo este aumento a la formación de fracciones de pectina solubles en agua. Otro factor que puede influir en la conservación de este parámetro es el tratamiento térmico. En un estudio realizado en la India, observaron en bebidas funcionales de frutas y fortificadas con fructooligosacáridos, un aumento de 15 a 16° Brix manteniéndose estable durante el periodo de almacenamiento (2, 4 y 6 meses) a 4°C, asociando esta estabilidad al tratamiento térmico previo al almacenamiento (90°C) (Renuka et al., 2009).

#### **14.1.3 Color**

El color es un parámetro fisicoquímico muy importante, tanto en alimentos como en las bebidas, ya que es el primer atributo que el consumidor capta sensorialmente y este puede ser alterado por factores como la refrigeración, el enlatado, la deshidratación, el ahumado, el embotellado y exposición a la luz, el aire, la humedad y las temperaturas extremas (Griffit, 2006). En el presente estudio, los resultados indicaron que el ángulo  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  y  $h^*$  permanecieron estables durante los 30 días de almacenamiento, mientras que el ángulo  $a^*$  presentó una disminución del día 0 al día 4, manteniéndose estable hasta el día 30 a 4°C. Las antocianinas, las cuales son uno de los compuestos fenólicos presentes en el maíz morado, son las responsables de proporcionar ese color característico, sin embargo, suelen ser susceptibles a altas temperaturas (Wilfred & Nicholson, 2009). Rodríguez-Salinas et al., (2019), observaron que el tratamiento térmico a 85°C durante 5 min altera el color de la bebida a base de maíz morado, modificando significativamente los valores para  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  y  $h$ ,



aumentando 2.71 para el ángulo L\*, 1.68 para el ángulo b\*, 1.62 para el ángulo C y 2.34 para el ángulo h, comparado contra la bebida control que no recibió tratamiento térmico ( $P<0.05$ ). Partiendo de esta observación, Sui et al. (2016), analizaron la estabilidad de las antocianinas en soluciones acuosas a diferentes temperaturas de almacenamiento (4, 25, 45 y 65°C) durante 25 días, después de haber recibido tratamiento térmico de 90, 100, 120 y 140°C, pudiendo observar que a temperaturas arriba de 25°C se acelera el cambio de color en los 4 tratamientos, mientras que a 4°C, tienden a mantenerse estables, sobre todo en el grupo que recibió tratamiento térmico de 90°C, mientras que aquellos que recibieron tratamiento térmico de 100, 120 y 140°C, la estabilidad se logró apreciar a partir del día 5. Este efecto ha sido observado en bebidas funcionales a base de cereales, Haggard et al., (2018) reportan en un estudio de bebidas a base de diferentes variedades de maíces pigmentados, que la temperatura es un factor importante para la conservación del color, donde observaron una mayor estabilidad almacenando las bebidas a 4°C comparadas con aquellas que se almacenaron a 25°C durante 12 semanas. Así mismo, en un estudio de bebidas a base de néctar de fresa reportado por Gössinger et al. (2009), obtuvieron resultados similares, donde se comparó el cambio de color a 25°C contra 4°C durante 3 meses de almacenamiento, observando que a 25°C hubo una menor estabilidad para el ángulo a\* durante los 3 primeros meses de almacenamiento ( $11.60 \pm 2.40 - 4.20 \pm 0.50$ ), mientras que a 4°C hubo una mayor estabilidad para el mismo periodo de tiempo ( $11.50 \pm 0.20 - 8.20 \pm 0.20$ ).

#### **14.1.4 Análisis microbiológico**

En la producción de alimentos, unos de los principales parámetros a considerar para la seguridad de su consumo es la inactivación microbiana, para prevenir el deterioro del producto y evitar problemas en la salud del consumidor (Knirsch et al., 2010). Los resultados del presente estudio indicaron una disminución en la cuenta total de mesofílicos aerobios y ausencia para psicrótrofos, coliformes totales, hongos y levaduras, bacterias ácido lácticas, *E. coli* y *Salmonella*, después

del tratamiento térmico y durante los 30 días de almacenamiento. Se ha reportado que para bebidas mínimamente procesadas o artesanales, un tratamiento térmico a 85°C durante 5 minutos puede inactivar el crecimiento de microorganismos, tales como los mesofílicos aerobios, lactobacilos y enterobacterias (Rodríguez-Salinas et al., 2019). Mientras que el efecto de la temperatura en los microorganismos es explicado principalmente a los grupos de bacterias de acuerdo a su temperatura óptima de crecimiento (termofílicos, mesofílicos, psicrótrofos y psicrófilos), donde el grupo de las bacterias mesofílicas la temperatura máxima de crecimiento ronda entre 35 y 47°C, como óptima de 30 y 45°C, finalmente la temperatura mínima de sobrevivencia está entre 5-10°C, a temperaturas menores a estas últimas las bacterias tienden a inactivar su crecimiento (Berk & Berk, 2013), por ello se puede explicar el comportamiento observado con una tendencia a disminuir durante los 30 días de almacenamiento y con ello una ausencia de bacterias psicrótrofas. De acuerdo con la normativa NOM-218-SSA1-2011, la cual indica un límite máximo de 50 UFC/g de mesofílicos aerobios, ausencia de coliformes totales y fecales, así como la ausencia de enterobacterias como la *Salmonella* y *E.coli*, la bebida a base de maíz morado cumple con dichos límites establecidos durante los 30 días de almacenamiento, es decir es segura para su consumo.

#### **14.1.5 Compuestos fenólicos totales**

La figura 9 muestra la variación de los compuestos fenólicos durante 30 días de almacenamiento a 4°C, se puede observar que del día 0 al día 4 hubo un aumento del 46% de compuestos fenólicos totales, mientras que la relación entre compuestos fenólicos libres-ligados paso de ser 42-58% a 51-49%, permaneciendo estable hasta el día 30. El incremento de los compuestos fenólicos durante el almacenamiento se ha asociado con la formación de otros compuestos fenólicos y reacciones que ocurren entre ellos, como lo observado por Kallithraka et al., (2007), en un estudio en vino tinto en el que encontraron una relación directa entre el incremento de compuestos fenólicos totales y el

incremento de la concentración de ácido caféico, cumárico y ferúlico tras 8 meses de almacenamiento. Al igual que Castro-López et al., (2016), quienes analizaron una bebida compuesta por agua de coco, naranja, pera, manzana, mango y guayaba la cual recibió un tratamiento térmico de 95°C durante 15 seg y fue almacenada a 4°C, encontrando un aumento de  $124.43 \pm 5.53$  a  $325.09 \pm 16.32$  mg GAE L<sup>-1</sup> tras 8 días de almacenamiento, atribuyendo este aumento a las reacciones entre los polifenoles oxidados y la formación de nuevos compuestos de carácter antioxidante durante el almacenamiento del jugo. De la misma manera Haggard et al., (2018), en un estudio en bebidas adicionadas con extracto de antocianinas del pericarpio de maíz, almacenadas a 4°C observaron que del mes 0 al mes 4 hubo un aumento del 10.72% ( $133.3 \pm 5.40 - 147.60 \pm 3.80$  mg GAE L<sup>-1</sup>), asociando este aumento a la formación de otros compuestos fenólicos de carácter antioxidantes producto de la degradación de antocianinas. Así mismo, Klimczak et al. (2007), reportan un aumento del 2.68% en el contenido de compuestos fenólicos totales en jugos de naranja del mes 2 al 6 de almacenamiento, mencionando que este efecto pudo deberse a la reacción con otros compuestos formados durante el almacenamiento, tales como carotenoides, aminoácidos, azúcares y ácido ascórbico que pueden reaccionar con el reactivo de Fohlin (Vinson et al., 2001).

Por otro lado, como se puede observar en la Figura 8 B, hubo una caída del 10% de los compuestos fenólicos ligados, mientras que los compuestos fenólicos libres aumentaron el mismo porcentaje. Como se ha mencionado, los compuestos fenólicos están divididos en dos grupos: fenólicos libres y ligados, sin embargo, cuando los productos alimenticios son sometidos a tratamiento térmicos mayores a los 40°C se favorece la ruptura de las estructuras de proteicas y fibra dietaria favoreciendo la liberación de los compuestos fenólicos (Klimczak et al., 2007).

#### 14.1.6 Flavonoides

Los flavonoides son un grupo muy amplio de compuestos fenólicos con un peso molecular bajo, se pueden encontrar de forma libre y glicosilada en plantas y vegetales. De acuerdo con los resultados obtenidos, se pudo observar que hubo una disminución general durante los 30 días de almacenamiento. Del día 0 al día 4 hubo una disminución del 24.82%, permaneciendo estable hasta el día 12, posteriormente se observó una disminución del 10.12% del día 12 al día 16, permaneciendo estable hasta el día 30, con una concentración final de 13.53 mg ECat/L. Del Caro et al., (2004), evaluaron los cambios del contenido de flavonoides durante 15 días en bebidas funcionales a base de frutos cítricos encontrando un comportamiento similar al observado en el presente estudio, teniendo una disminución en el contenido de flavonoides del 36% del día 0 al día 5, manteniéndose estable hasta el día 15, así mismo Gironés-Vilaplana et al. (2012), analizaron bebidas de bayas de maqui durante 70 días a 4°C, en las que reportaron una disminución del 21.1% al final del estudio asociando este comportamiento a la tendencia de los flavonoides a precipitarse como consecuencia de su baja solubilidad.

Por otro lado, partiendo del comportamiento del porcentaje de compuestos fenólicos libres y ligados, se pudo observar la misma tendencia de los compuestos fenólicos; del total de flavonoides (Figura 9 B) al día 0, el 53.55% pertenecía a los flavonoides ligados, mientras que el 46.05% se presentaron en su forma libre, así mismo, esto se vio modificado al día 4; el porcentaje de los flavonoides ligados disminuyó a 44.23% y el porcentaje de flavonoides libres aumento a 55.77% conservando esta tendencia hasta el día 30, comportamiento que coincide con la liberación de los compuestos fenólicos reportados en la sección anterior. La literatura reporta que el contenido total de flavonoides en el grano del maíz variedad morado la soledad, el 47% están en forma libre, mientras que el 52% están en forma ligada, por lo que se espera esta misma relación entre flavonoides libres y ligados en la bebida, sin embargo, como se ha mencionado

anteriormente, el tratamiento térmico afecta la composición fenólica, esto incluye la liberación de compuestos fenólicos ligados a la matriz de las células, así como la transformación de compuestos fenólicos ligados a compuestos fenólicos libres, por lo que el aumento el porcentaje de flavonoides libres comparados con los flavonoides ligados se puede asociar al efecto del tratamiento térmico. De igual manera, el almacenamiento se ha asociado con el aumento de flavonoides libres debido a una continua hidrólisis estructural de la matriz celular por enzimas, tales como pectinasas, celulasas, amilasas y glucanasas (Lang et al., 2019).

#### **14.1.7 Taninos condensados**

El contenido total de taninos condensados se muestra en la figura 10, donde se puede observar una pérdida del 41% durante los primeros cuatro días, sin embargo, permaneció estable hasta el día 30. En un estudio similar, Haggard et al., (2018), reportaron una pérdida del 8.33% de taninos condensados en bebidas a base de maíz morado almacenadas a 4°C durante el primer mes. Por otro lado, Yang et al., (2011), analizaron el comportamiento de los taninos condensados en bebidas tónicas a diferentes temperaturas de almacenamiento (0° y 20°C) encontrando que a 0°C hubo una disminución del 50% a partir del día 18, manteniéndose estable hasta el día 22, mientras que a 20°C la disminución se observó a partir del día 6 con un contenido mayor al 90%. En un ambiente normal, los compuestos fenólicos y las enzimas que los degradan se encuentran estructuralmente ubicados en diferentes sitios; sin embargo, al sufrir alguna tensión adversa como es la fuerza mecánica y lesiones por temperatura o gases, como el etileno que participa en la maduración de las frutas y las verduras, las estructuras de la membrana celular se dañan permitiendo que ambos sustratos interactúen (Yu, G., 2008). Así mismo, los taninos pueden ser los principales sustratos de las enzimas debido a que tienen varios grupos galloilo en las estructuras de los taninos, que proporcionan más sitios para interactuar, por lo que pueden oxidarse fácilmente (Yang et al., 2011). A su vez, Giuffrida de Esteban et al. (2019), en un estudio de 24 meses de almacenamiento a diferentes temperaturas (15 y 25°C) en vinos Malbec se observó que a 15°C el contenido

de taninos era mayor que a 25°C a partir del segundo mes y que la mayor pérdida de taninos ocurrió al sexto mes en ambas temperaturas, conservando la tendencia a tener un mayor contenido de taninos a 15°C, por lo que asociaron las pérdidas del contenido de taninos al estar expuestos a altas temperaturas de almacenamiento, así como al bajo pH del vino, ocasionado por la división de los enlaces C-C inter-flavonoides que forman especies de bajo peso molecular.

#### **14.1.8 Antocianinas**

Las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides, son solubles en agua y proporcionan tonalidades de rojos, morados y azules entre diversos frutos, vegetales y plantas (Castañeda-Ovando et al., 2009). En la figura 11 se puede observar una disminución significativa de antocianinas del 9% al día 4 de almacenamiento, permaneciendo estable hasta el día 12 presentando una disminución máxima para el día 30 de 37.76% ( $P<0.05$ ). Asociándose a lo observado en los resultados de color de la bebida durante los 30 días de almacenamiento donde el ángulo  $a^*$ , el cual determina los colores verde-rojo, disminuyó significativamente el 26% del día 0 al día 4 ( $P<0.05$ ).

Se ha reportado que la degradación de las antocianinas en un sistema alimenticio es más lenta comparada contra las soluciones purificadas, debido a la co-pigmentación del compuesto; es decir, que interactúa con otros componentes de la matriz alimenticia, que es lo que ocurre normalmente en los alimentos. (Sui et al., 2016). De acuerdo con lo observado en el presente estudio se puede decir que durante los primeros 4 días son liberados los compuestos fenólicos de la matriz de la bebida, por lo que son más susceptibles a su degradación. La liberación de estos compuestos de la matriz alimenticia y la liberación del ácido ascórbico, ocasiona cambios fisicoquímicos, como el aumento de acidez y una disminución del pH, que pueden influir en la degradación del contenido de antocianinas debido a que puede ocurrir una reacción de condensación (Mgaya-Kilima et al., 2014).

Este tipo de variaciones han sido observadas anteriormente asociándose a factores como la temperatura de almacenamiento. De acuerdo con lo que reporta Haggard et al., 2018 en una bebida de maíz pigmentado, se pudo determinar la temperatura como factor de conservación de antocianinas, en su estudio determinaron una pérdida del 6% durante 30 días de almacenamiento a 4°C, en una bebida de maíz pigmentado. Por otro lado, Gössinger et al., 2009 observaron una disminución del 9% después de 3 meses de almacenamiento a 4°C en un estudio donde se analizó el néctar de fresa, mientras que a 20°C hubo una disminución del 54% durante el mismo período, por lo que determinaron que a menor temperatura se mantuvieron estables el color y las antocianinas. Así mismo, Mgaya-Kilima et al., (2014), reportaron una pérdida del 53.39% del contenido total de antocianinas en una mezcla de jugo de cítricos tras 6 meses en almacenamiento a 4°C.

#### **14.1.9 Capacidad antioxidante de la bebida a base de maíz morado**

Los resultados presentados en la Tabla 13, demuestran que del día 0 al día 4, por los métodos de DPPH y ABTS, la capacidad antioxidante aumentó 90.84% y 24.71%, respectivamente y disminuyó 7.45% por el método de FRAP, seguido de una disminución hasta el día 30. Martínez-Flores et al. (2015), observaron en un estudio de una bebida de zanahoria almacenada a 4°C, un aumento del 2.30% para el día 10 de almacenamiento por el método de DPPH y atribuyeron este aumento al incremento de compuestos fenólicos libres. Resultados similares fueron reportados por Castro-López et al., (2016), quienes observaron un aumento del 45% del día 4 al día 8 en una bebida de granada por el método de DPPH, atribuyendo dicho comportamiento a la fuerte tendencia de los polifenoles a sufrir reacciones de polimerización, generándose áreas más grandes disponibles para la deslocalización de la carga, una vez que excede su valor crítico, la complejidad molecular y el impedimento estérico reducen la disponibilidad de grupos hidroxilo en reacción con los radicales DPPH, lo que causa una disminución en la capacidad antirradical. Gironés-Vilaplana et al., (2011), determinaron la capacidad antioxidante por el método ABTS en una

bebida de limón y bayas de maqui almacenada a 4°C, observaron un aumento del 11% al día 42 de almacenamiento; sin embargo, a partir del día 56 disminuyó el 20%. Por otro lado, Klimczak et al., (2007), determinaron la capacidad antioxidante en jugo de naranja almacenado a 18°C durante 6 meses, observando que hubo un aumento del 3.45 a 8.25% del mes 0 al mes 2 de almacenamiento por el método de DPPH, mientras que por el método de FRAP observaron una disminución del 4% en ese mismo periodo de tiempo, atribuyendo este comportamiento a la disminución de vitaminas como la C y el contenido total de polifenoles, los cuales están relacionados con la capacidad antioxidante por el método de FRAP (Klimczak et al., 2007). Mgaya-Kilima et al., (2014), en su estudio en bebidas de jugo de cítrico tras 6 meses en almacenamiento a 4°C, observaron una disminución del 57.78% de la capacidad antioxidante por el método de FRAP asociando la disminución de capacidad antioxidante con la disminución de antocianinas monoméricas. De acuerdo a la composición del grano del maíz, este contiene vitaminas y minerales tales como el complejo B, provitamina A, carotenoides y vitamina E, así como Fe, Mg y Zn (Prasanthi et al., 2017), los que se relacionan con la actividad antioxidante. Por lo tanto, las actividades antioxidantes no pueden atribuirse únicamente a sus contenidos fenólicos, sino también a las acciones de diferentes compuestos antioxidantes presentes en los cereales y sus interacciones.

La capacidad antioxidante depende de la cantidad y el tipo de compuestos bioactivos que producen las frutas y los vegetales. Nuestros resultados muestran que, por los tres métodos, alrededor del 20-30% de la capacidad antioxidante provino de la fracción libre, mientras que el 70-80% de la fracción ligada durante los 30 días de almacenamiento (Figuras 14, 15 y 16). Se pudo observar que la capacidad antioxidante por DPPH y ABTS, hubo una disminución de la capacidad antioxidante libre del 17% y 5%, mientras que la fracción libre aumento 57 y 8% respectivamente durante los primeros 8 días de almacenamiento. En un estudio realizado en bebidas funcionales a base de moras, Zou et al., (2017), observaron que el porcentaje de actividad antioxidante ligada en las bebidas permaneció



estable durante las primeras 4 semanas, mientras que a la semana 6, se presentó un aumento del 50%, mientras que la fracción ligada sufrió una disminución del 20% para la semana 2 y una disminución del 50% para la semana 4. Atribuyendo este efecto a la formación de fenoles unidos al sedimento a partir de compuestos fenólicos libres sobrenadantes.

Por otro lado, se ha estudiado que la capacidad antioxidante en cereales proviene en su mayoría de la fracción ligada. En el grano del maíz aproximadamente 0.40% de la actividad antioxidante es proporcionada por la fracción libre y 99.60% por la fracción ligada por el método de DPPH, mientras que por el método de ABTS el 0.91% es debido a la fracción libre y 99.10% por la fracción ligada, por otro lado por el método de FRAP el 47.19 % es debido a la fracción libre y el 52.81% de la fracción ligada (Das & Singh, 2016). Como se ha mencionado, cuando los productos alimenticios son sometidos a tratamiento térmicos mayores a los 40°C se favorece la ruptura de las estructuras de proteicas y de las fibras, favoreciendo la liberación de los compuestos fenólicos, mismos que participan en la actividad antioxidante (Klimczak et al., 2007). Por otro lado, en un estudio realizado en bebidas funcionales a base de moras, Zou et al., (2017), observaron que el porcentaje de actividad antioxidante ligada en las bebidas permaneció estable durante las primeras 4 semanas, mientras que a la semana 6, se presentó un aumento del 50%, atribuyendo este aumento a la formación de fenoles unidos al sedimento a partir de compuestos fenólicos libres sobrenadantes.

## **14.2 Fase experimental II**

### **14.2.1 Capacidad antioxidante en plasma**

El cuarto objetivo de nuestro estudio fue: evaluar el efecto antioxidante de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) en un modelo *in vivo*. Esto se logró examinando el efecto antioxidante postprandial del consumo de la bebida de maíz morado en participantes sanos (grupo control n=6, IMC  $23.07 \pm 0.93$ ; grupo estudio n= 8, IMC  $21.93 \pm 0.88$ ), midiendo capacidad antioxidante total por el

método de FRAP y cuantificando los marcadores de oxidación lipídica LDLox y F2-isoprostano en plasma, durante los 180 minutos posteriores a la ingesta.

La bebida estudio se destacó por tener un contenido significativamente mayor que la bebida control en flavonoides libres y taninos condensados, (35.66% y 36.30%, respectivamente) así como la presencia de antocianinas ( $20.50 \pm 0.63$  mg EC3G/L) (Tabla 15) ( $p < 0.05$ ). Por lo que la bebida estudio mostró tener un mejor perfil protector frente a la actividad oxidativa, atribuyendo esta capacidad a su composición fenólica. Los resultados indicaron que el consumo de la bebida control disminuyó significativamente los niveles de capacidad antioxidante en plasma durante los primeros 120 minutos después de la ingesta de la bebida ( $p = 0.044$ ), en comparación con la bebida estudio la cual no presentó cambios significativos durante 180 minutos, resultando una ABC 4.81 veces menor en el grupo control vs el grupo estudio (figura 16).

Se ha demostrado que la ingesta de alimentos ricos en compuestos fenólicos como las fresas, granada, nueces, entre otros, puede tener efecto protector frente a la actividad oxidativa debido a su composición fenólica, ya que se ha observado que provoca un aumento de compuestos fenólicos circulantes en plasma, provocando un aumento en la capacidad antioxidante. En un estudio realizado por Torabian et al., (2009), se analizó el efecto postprandial del consumo de nueces, en sujetos sanos, donde pudieron observar que el contenido de compuestos fenólicos en plasma aumento un 29.60% después de 90 min de haber consumido las nueces elevando un 18.00% la capacidad antioxidante en plasma. Sin embargo, en otros análisis no se observó un aumento significativo de los niveles plasmáticos de la capacidad antioxidante en sangre tras el consumo de alimentos ricos en polifenoles como lo reportado por Godycki-Cwirko et al., (2010), donde no encontraron un aumento significativo de compuestos fenólicos en plasma, después de la ingesta de una bebida de manzana. Estos resultados contrastantes pueden deberse a varios factores, incluida la baja biodisponibilidad de polifenoles del tracto intestinal, a las grandes variaciones

individuales en la eficiencia de absorción de polifenoles, entre otros factores (Khan et al., 2014).

Al día 0 la bebida estudio presentó el 58% y 54% de los compuestos fenólicos y flavonoides (Figuras 8 y 9), en su forma ligada, proviniendo alrededor del 70% de la capacidad antioxidante de esta fracción (Figuras 12, 13 y 14). El metabolismo de los compuestos fenólicos libres inicia en el intestino delgado, mientras que los compuestos fenólicos fuertemente unidos a la pared celular (ligados) pueden no verse afectados por las condiciones de la fase gástrica o las enzimas del intestino delgado, llegando al colon una gran parte de estas moléculas sin ser digeridas, algunas de ellas pueden reabsorberse en el hígado e ingresar a la circulación sanguínea, proporcionando un aumento en la capacidad antioxidante del plasma basal. Por lo que estos antioxidantes unidos a la pared celular pueden ejercer efecto más tiempo que los antioxidantes libres (Cömert & Gökmen, 2017). En este sentido, en un estudio en ratones se analizó la biodisponibilidad de ácido ferúlico ligado en salvado, en el cual establecieron dos tipos de dieta, una adicionada con ácido ferúlico y otra con salvado de trigo (95.8% del ácido ferúlico se encuentra en forma ligada y 4.20% libre). Sus principales observaciones fueron que en ambas dietas elevaron el nivel de ácido ferúlico a los 15 min, sin embargo, en la adicionada con ácido ferúlico se observó que los niveles en plasma comenzaron a disminuir al minuto 30, hasta llegar a un valor de 0 a la hora 4.5, mientras que aquellas que fueron suplementadas con salvado, a partir de la hora 4.5 el contenido de ácido ferúlico en plasma aumentó, siendo estable hasta la hora 24, además de presentar un 30% más de capacidad antioxidante en plasma. Por lo que se puede asociar, que los compuestos fenólicos libres, son absorbidos e hidrolizados rápidamente por enzimas como esterasa o xilanasas, mientras que los ligados se van liberando progresivamente permitiendo concentraciones constantes entre 1.5 y 24 horas (Rondini, et al., 2004). Lo anterior nos ayuda comprender el efecto postprandial observado en el plasma de los participantes de ambos grupos del presente estudio: en primer lugar, la disminución significativa de la capacidad antioxidante en plasma, en los participantes que consumieron la bebida control, debido a que contiene menor

cantidad de compuestos fenólicos libres, en contraste con la estabilidad de la capacidad antioxidante en plasma en los participantes que ingirieron la bebida estudio la cual presentó una cantidad mayor de compuestos libres, como flavonoides, taninos y antocianinas, así mismo, el incremento a partir de la hora 3 en capacidad antioxidante en plasma en ambas bebidas, debido a la liberación progresiva de los compuestos fenólicos ligados (Figura 17).

Otro factor que puede influir entre la respuesta postprandial antioxidante en plasma y los compuestos fenólicos libres (y los ligados a largo plazo) en nuestra bebida, es que dichos compuestos se han asociado con la inhibición de enzimas como  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa por el mecanismo de inhibición competitiva, no competitiva o mixta que al ser bloqueadas disminuyen el nivel de glucosa postprandial, provocando así una reducción en la tasa de absorción de glucosa en la sangre disminuyendo la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno postprandial (McDougall et al., 2005).

Las bebidas en este estudio fueron elaboradas con maíz blanco (bebida control) y maíz morado (bebida estudio), siendo el almidón el principal componente del grano del maíz, se ha demostrado que alimentos ricos en carbohidratos y deficientes en compuestos fenólicos, aumentan los niveles oxidativos plasmáticos comparados contra aquellos que si los contienen. Este efecto se pudo observar en un estudio realizado por Chusak et al., (2018), quienes realizaron unas bebidas con *Clitoria ternatea* (CTE), utilizando como bebida control una formulación con 50 g de sacarosa y dos bebidas estudio; donde emplearon 1 y 2 g de CTE más 50 g de sacarosa en cada una, se midió la capacidad antioxidante por el método de FRAP a los 180 min posteriores de la ingesta de las bebidas. Dentro de los resultados se pudo observar que, tras los primeros 30 min del consumo de la bebida, el control disminuyó los niveles antioxidantes en sangre; mientras que 2 g de CTE (+50 g sacarosa) y 1 g de CTE (+50 g sacarosa), aumentaron la respuesta del 50 y 45% respectivamente, con un pico máximo al minuto 90 y manteniéndose estable hasta el minuto 180, de tal manera que el consumo de 1 y 2 gramos de CTE fue de 3.74 y 4.72 veces

más altos en ABC (área bajo la curva) para capacidad antioxidante plasmático determinado por FRAP comparado con el control. Por lo que pudieron asociar que CTE debido a su alto contenido de antocianinas retrasa el aumento de la glucosa postprandial por la inhibición de enzimas como la  $\alpha$ -amilasa y glucosidasa, mostrando un efecto protector aumentando la capacidad antioxidante. Así mismo, investigadores de la Universidad de Chulalongkorn, analizaron la respuesta antioxidante en plasma antes y después de 180 min de haber ingerido tres diferentes tipos de pan: control (pan blanco), un pan de arroz variedad Riceberry y otro a base de arroz variedad Hom Mali. Sus principales hallazgos fueron que en los participantes que consumieron el control y el pan a base de Hom Mali, disminuyó la respuesta antioxidante un 70 y 50% respectivamente durante la primera hora, mientras que en los que consumieron el pan de arroz Riceberry aumentó el 50% respecto al estado basal. Además, las ABC de los grupos control y Hom Mali fueron 1.7 y 2.4 veces menor, respectivamente al grupo Riceberry. Estos resultados indicaron que el pan con base de arroz Riceberry, mejoró la capacidad para eliminar los radicales libres, atribuyendo esto a los altos niveles de compuestos fenólicos presentes en el grano de arroz (Chusak et al., 2020).

## **14.2.2 Oxidación lipídica en plasma**

### **14.2.2.1 LDLox**

El mecanismo de acción de los compuestos bioactivos ha sido descrito previamente, los alimentos ricos en flavonoides pueden eliminar directamente algunas especies de radicales, rompiendo la reacción en cadena de la peroxidación lipídica, así mismo, pueden preservar la actividad paraoxanasa asociada al HDL, que se ha demostrado que previene la oxidación de partículas de LDL (Ho et al. 2013).

Los resultados obtenidos para el LDLox en ambos grupos tuvieron una tendencia a aumentar, sin embargo, no presentó diferencia significativa. Se ha demostrado

que las diferencias en el nivel de LDLox entre los tratamientos pueden no ser evidentes sino hasta seis horas después de la ingesta del alimento, lo cual puede explicar lo observado en los resultados de LDLox en plasma del presente estudio. En un estudio realizado en la Universidad de California, se analizaron 3 diferentes alimentos (uno compuesto a base de frijol negro, otro enriquecido con fibra y uno más enriquecido con antioxidantes) en el cual cuantificaron LDLox en 12 participantes sanos, encontrando que después de 5 horas de haber consumido el alimento no presentaba diferencia significativa (Reverri et al., 2015), por otro lado, Burton-freeman et al., (2011), en un grupo de 33 participantes observaron una disminución de 1.11 veces después de 6 horas de haber consumido una pasta de tomate, atribuyendo este efecto a que los compuestos fenólicos pueden unirse al LDL circulante, proporcionando una protección frente a especies reactivas de oxígeno a través de su actividad de captación de peroxilo. En contraste con lo reportado por Pala et al., (2017), en una bebida de *Acai*, encontraron una disminución significativa del 60% después de 4 semanas de la ingesta; lo que puede indicar que el tiempo de ingesta es uno de los principales factores para mostrar cambios significativos en los participantes que consumen compuestos fenólicos.

Se ha estudiado que los niveles del marcador LDLox pueden verse afectados por factores como el sexo (Arts et al., 2001). En este sentido, Burton-Freeman et al. (2010), observaron que los niveles de LDLox después del consumo de una bebida de fresa al inicio de un estudio en mujeres parecía no tener cambios significativos después de 6 horas de ingesta; sin embargo, al transcurrir 6 semanas del estudio, la disminución fue significativa comparado con el estado basal, disminuyendo el 6.7 veces, esto en comparación a lo observado en hombres, en quienes la disminución fue inmediata, por lo que se atribuyó esta diferencia a la composición hormonal. Este efecto se ha asociado a la respuesta metabólica de las lipoproteínas frente a la dieta, ya que el depósito de grasa es mayor en mujeres en comparación con los hombres, por lo que existe una mayor movilización de ácidos grasos libres durante el ayuno en mujeres, además, la captación y esterificación de triglicéridos y secreción de lipoproteínas de muy baja

densidad también aumentan al ser impulsadas por los estrógenos (Knopp, 2005), por lo que el sexo puede ser un factor determinante en los resultados obtenidos en nuestro estudio, debido a que, el 77% del grupo control y el 100% del grupo estudio estaba conformado por mujeres.

#### **14.2.2.2 F2-Isoprostano**

Otro marcador utilizado en este estudio para medir el nivel de peroxidación lipídica fue el F2-isoprostano, el cual presentó una tendencia a aumentar en el grupo control ( $2.56 \pm 13.89$  pg/mL), con respecto al estado basal y a disminuir en el grupo estudio ( $-0.04 \pm 10.41$  pg/mL), no se presentó diferencia significativa respecto al tiempo ni entre tratamientos. Existen diferentes factores que pueden afectar los niveles detectados de F2-isoprostano uno de ellos es el tipo de muestra. En un estudio realizado en la Universidad de Deakin, Australia se analizó el marcador F2-isoprostano después del consumo de pasta enriquecida con sorgo rojo, encontrando una disminución de 1.37 pg/mL y el control aumentó 0.34 pg/mL respecto al estado basal, sin diferencia significativa, sugiriendo que esta falta de efecto sobre el nivel de isoprostano puede deberse al corto tiempo de vida media de los isoprostanos en el plasma (Khan et al., 2014), proponiendo a la orina como un mejor fluido biológico que el suero o el plasma, para la medición de los niveles de F2 isoprostano, ya que en la orina se puede medir la acumulación de este marcador, mientras que los isoprostanos en plasma tienen una vida media corta y los niveles varían ampliamente a lo largo del tiempo (Mahan et al., 2009).

Otros estudios indican que el tiempo y la frecuencia de consumo pueden influir en los resultados no significativos. En un estudio realizado en la Universidad de Magdeburg, Alemania, se analizaron dos bebidas de cacao, una bebida control bajo en flavonoides y una bebida alta en flavonoides, donde se observó que el grupo bajo en flavonoides tuvo un aumento progresivo durante 6 horas, teniendo un pico máximo a la hora 4, aumentando el 22% comparado con el estado basal, mientras que el grupo alto en flavonoides, disminuyó el 9.7% a la hora 6 de consumo, ambos tratamientos no presentaron diferencia significativa (Wiswedel

et al., 2004). Por otro lado, Zilio et al., (2018), analizaron la suplementación de 300 mg por día de polifenoles durante 15 días encontrando que en el grupo control hubo un aumento significativo de 563 a 795 pg/mL, mientras que en el grupo estudio se mantuvo estable (586 – 610 pg/mL), demostrando que el uso de polifenoles previno el aumento de los niveles de dicho marcador.

Uno de los mecanismos por el que los polifenoles regulan los niveles de estos marcadores inflamatorios son las reacciones bioquímicas *in vivo* que afectan a varias vías y criterios de valoración. Se ha demostrado que los compuestos fenólicos pueden modular la actividad de las enzimas que intervienen en el metabolismo del ácido araquidónico en los macrófagos, tales como la fosfolipasa A2, ciclooxigenasa y lipoxigenasa. La inhibición de estas enzimas por flavonoides reduce la producción de prostaglandinas, leucotrienos y peroxinitrato (Hollman et al., 2011), así mismo, se puede considerar la participación de otros componentes principales de la bebida de maíz como los carbohidratos y los compuestos fenólicos en el estrés oxidativo posprandial, ya que se ha sugerido un papel de la oxidación mediada por glucosa en la desintoxicación intestinal de hidroperóxidos lipídicos (Aw et al., 1998).



## 15. CONCLUSIONES

La bebida a base de maíz morado demostró tener un contenido importante en carbohidratos, proteína, ceniza, grasa y fibra cruda. En cuanto a las características fisicoquímicas, se pudo observar cambios significativos durante los primeros 4 días de almacenamiento en los parámetros de acidez y pH; mientras que el color y los sólidos solubles totales, los cuales son factores importantes para la calidad de la bebida, permanecieron estables durante los 30 días de almacenamiento. Por lo que podemos concluir que los primeros cuatro días en almacenamiento son clave importante para alcanzar la estabilización completa de la bebida a base de maíz morado. Así mismo, se demostró que el tratamiento térmico y las condiciones de almacenamiento se asocian positivamente a la conservación de la bebida debido a la ausencia de microorganismos patógenos y descomponedores durante los 30 días de almacenamiento, por lo que la bebida se mantiene inocua y por lo tanto es segura para consumo humano.

Además, también se pudo observar que, durante los primeros 4 días de almacenamiento existió liberación de compuestos fenólicos; mientras el contenido de los flavonoides totales, taninos y antocianinas, disminuyó durante este mismo periodo de tiempo y posteriormente se mantuvo estable. Además, la capacidad antioxidante total mostró un incremento durante los primeros 4 días de almacenamiento; sin embargo, a partir de este periodo el porcentaje disminuyó, principalmente en la fracción ligada.

En el estudio *in vivo* se demostró que el consumo de una bebida a base de maíz morado puede mejorar la capacidad antioxidante postprandial en plasma después de 3 horas de consumo, comparado con una bebida a base de maíz blanco, estas diferencias podrían estar relacionadas con el alto contenido de compuestos fenólicos y el perfil de grupos fenólicos presentes en la variedad morada. Así mismo, no se vieron alterados significativamente los niveles de LDL-ox y F2-isopropano durante este periodo de tiempo.

Dentro de las perspectivas a futuro se puede tomar en cuenta una extensión del marco de tiempo de medición más allá de 3 horas, para monitorear por un periodo de tiempo mayor la interacción que puede existir entre los polifenoles y otros componentes alimentarios, como la fibra dietaria antioxidante, lo cual permitiría ayudar a definir de una manera más completa el papel de los compuestos bioactivos presentes en el maíz morado en la atenuación del estrés oxidativo postprandial. Así mismo, se deberá considerar otro tipo de muestra, como la orina, para una medición más precisa de los biomarcadores estudiados. La bebida a base de maíz morado contiene propiedades nutracéuticas que pudieran ayudar a disminuir la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles, sin embargo, se necesitan estudios *in vitro* o *in vivo* para confirmarlo.

## 16. ANEXOS

### 16.1 Formato de evaluación sensorial por escala hedónica

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

#### Indicaciones

A continuación, encontrará frente a usted dos bebidas. Por favor, indique el nivel de agrado en cuanto a los atributos de acuerdo con la siguiente escala.



¿Cuánto te gusta o te disgusta el color de la bebida?	
Muestra	Calificación
829	
571	

¿Cuánto te gusta o te disgusta el olor de la bebida?	
Muestra	Calificación
829	
571	

Agrado general, tomando en cuenta las características evaluadas, ¿qué tanto te gusta o disgusta la bebida?	
Muestra	Calificación
829	
571	

¿Cuánto te gusta o te disgusta la consistencia de la bebida?	
Muestra	Calificación
829	
571	

¿Cuánto te gusta o te disgusta el sabor de la bebida?	
Muestra	Calificación
829	
571	

## 16.2 Lista de alimentos no permitidos, moderados y permitidos

No permitido		Moderado	Permitido
<b>Frutas</b>			
Toronja Naranja Manzana con piel Sandía Granada Uvas Mango Durazno	Cerezas Frambuesas Moras Arándanos Fresas Mandarina Pera con piel Pasas y dátiles	Piña Limón Kiwi Plátano	Pera sin piel Manzana sin piel
<b>Verduras y cereales</b>			
Linaza Cebolla Brócoli Nopales Berenjena Coliflor Apio	Espinaca Zanahoria Calabacita Chicharos Chiles Maíz, Avena Harinas integrales	Ajo Lechuga Alcachofa	Champiñones Repollo Arroz blanco Harinas refinadas y pasta Papa blanca sin piel
<b>Leguminosas</b>			
Frijol Lentejas	Alubias	Soya Habas	Garbanzos
<b>Grasas</b>			
Almendras Nuez de la india Pistaches Semillas	Nueces Aceite de linaza Aceite de oliva	Aguacate	Aceite de canola Aceite de girasol Mantequilla
<b>Espicias y condimentos</b>			
Curry Orégano Perejil Mostaza	Albahaca Canela Mayonesa Pimienta		
<b>Origen animal</b>			
Yema de huevo Leche entera			Carne Lácteos descremados Pollo Pescado Clara de huevo
<b>Bebidas</b>			
Jugos de frutas Cocoa Chocolate Sidra	Café Té Cerveza Vino tinto		Agua Agua mineral

### 16.3 Menú opcional

Desayunos	Comidas	Cenas
<p>Claros de huevo con champiñones</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Acompañar con: tortilla de harina o pan blanco</li> </ul>	<p>Bistec a la plancha</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Acompañar con: Arroz con garbanzos y lechuga</li> </ul>	<p>Pescado a la plancha</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Acompañar con: papas y champiñones salteados en mantequilla</li> </ul>
<p>Sándwich de jamón con aguacate</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Agregar: Lechuga, queso reducido en grasa (ejemplo: panela)</li> </ul>	<p>Pollo en crema champiñones (baja en grasa)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Acompañar con: Pan o arroz blanco</li> </ul>	<p>Tacos de pollo (harina)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Agregar: aguacate y lechuga</li> </ul>
<p>Omelette (claras de huevo) con papas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Acompañar con: champiñones con ajo</li> </ul>	<p>Picadillo con papa</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Sazonar con poco ajo y sal</li> <li>Acompañar con: tortilla de harina, arroz o pasta, lechuga o champiñones</li> </ul>	<p>Omelette de claras de huevo</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Agregar: Jamón y queso bajo en grasa</li> <li>Acompañar con pan blanco o tortilla de harina</li> </ul>
<p>Quesadillas (de harina con queso reducido en grasa) con aguacate o champiñones</p>	<p>Pollo con pasta y champiñones a la mantequilla</p>	<p>Sándwich de pollo</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Agregar: Lechuga, queso reducido en grasa (ejemplo: panela), aguacate</li> </ul>

#### 16.4 Consentimiento informado

Título del estudio	Desarrollo de una bebida funcional a base de maíz morado ( <i>Zea mays</i> ): compuesto bioactivos y efecto antioxidante en un modelo in vivo.
Nombre del investigador principal	María Catalina Hernández Trejo
Institución	Facultad de Nutrición y Salud Pública. Universidad Autónoma de Nuevo León
Servicio/departamento	
Teléfono de contacto	
Persona de contacto	

Esta forma de consentimiento informado puede incluir términos que usted no comprenda. Por lo que se sugiere pedir ayuda al personal involucrado en el estudio para aclarar cualquier duda o concepto que no entienda. Su participación en este estudio es voluntaria. Es de importancia que comprenda la explicación que se explica a continuación y cada uno de sus procedimientos. A continuación, se describe el propósito, los procedimientos, riesgos, molestias, beneficios y advertencias incluyendo la duración y la naturaleza de su participación.

No se pueden dar garantías respecto a los resultados del estudio de investigación.

Para ingresar al estudio, usted como sujeto debe firmar y fechar este documento con la presencia de dos testigos y finalmente recibirá una copia de este.

##### 1. Propósito del estudio.

Evaluar el efecto antioxidante de la bebida a base de maíz morado (*Zea mays*) en un modelo *In vivo*.

##### 2. Criterios de inclusión y exclusión.

El personal del estudio verificará que usted cumpla con los siguientes requisitos antes de considerar su ingreso al estudio de investigación.

- Edad entre 22 y 40 años, IMC entre 18.5 y 24.9 kg/m<sup>2</sup>

### **3. Procedimientos.**

Si usted acepta participar en el estudio, el nutriólogo le realizará una breve entrevista, una historia clínica y se obtendrá una muestra de sangre para analizar la glucosa sérica en ayuno.

### **4. Riesgos y molestias.**

Se realizarán dos evaluaciones integrales que incluyen: antropometría, composición corporal, muestra de sangre y muestra de orina.

El Licenciado en Nutrición se encargará de la orientación dietética durante los dos periodos (previos al estudio e intervención), haciéndole entrega de planes dietéticos personalizados y una enfermera llevará a cabo la extracción de sangre.

### **5. Beneficios.**

Usted puede verse beneficiado por su participación en este estudio. Se realizarán dos evaluaciones integrales que incluyen: antropometría, composición corporal, muestra de sangre y muestra de orina. El Licenciado en Nutrición se encargará de la orientación dietética durante los dos periodos (previos al estudio e intervención), haciéndole entrega de planes dietéticos. Podrá tener acceso a la información y resultados de los análisis que se obtendrán al final del estudio y podrá recibir una orientación dietética personalizada. Su participación será gratificante debido a la información que se obtendrá a largo plazo para la generación de conocimiento básico, lo cual fortalecerá el estudio de desarrollo de este tipo de bebidas que impactan en la salud de la sociedad mexicana.

### **6. Retiro y terminación.**

Su participación es estrictamente voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar o retirarse del estudio no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que usted tendría derecho de algún otro modo.

## **7. Costos, reembolsos y pagos.**

Los procedimientos y pruebas relacionadas con el estudio no tendrán ningún costo.

## **8. Confidencialidad/expediente clínico.**

Toda la información que usted nos facilite, así como los resultados de los análisis de sangre se procesarán de forma confidencial utilizando códigos para garantizar el anonimato.

Si acepta participar, la información que usted proporcione se manejará en forma confidencial. Esta información no contendrá su nombre completo ni su domicilio, pero podrá contener otra información acerca de usted, tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica de la investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley.

Usted tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo con la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo con las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

La Facultad de Salud Pública y Nutrición, así como el Investigador serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones. La información recabada durante este estudio será recopilada en bases de datos del investigador, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.



Al firmar este documento, usted autoriza el uso y revelaciones de la información acerca de su estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información, el investigador le informará.

Los integrantes del equipo investigador se encargarán de contactarlo para información relevante para el estudio, por lo que conocerán sus datos personales. El resto de los colaboradores del estudio trabajarán con códigos, ignorando a qué voluntario le corresponde cada código.

El Comité Ético de Investigación de la Facultad de Salud Pública y Nutrición ha revisado los objetivos y procedimientos del estudio y ha dado la aprobación favorable para su realización.

#### **9. Compensación.**

No está contemplada la remuneración económica por su participación en el estudio.

#### **10. Declaración.**

Reconozco que me han dado la oportunidad de hacer preguntas relacionadas al estudio de investigación y que todas estas se me han respondido de manera clara y precisa.

Entiendo además si tengo preguntas relacionadas al estudio, así como en el caso de lesiones o complicaciones, deberé notificar de inmediato al investigador.

#### **11. Firma.**

Yo \_\_\_\_\_

(Nombre y apellidos)

- ✓ He leído la hoja informativa que se me ha entregado.
  - ✓ He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- ✓ He recibido suficiente información sobre el estudio.
  - ✓ He hablado con el investigador responsable.
  - ✓ Entiendo que mi participación es voluntaria.

- ✓ Entiendo que puedo retirarme del estudio:
  - ✓ Cuando quiera
  - ✓ Sin tener que dar explicaciones
- ✓ Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.
- ✓ Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha	Firma de voluntario

**Aseguramiento del investigador o del miembro del equipo.**

*He discutido lo anterior con esta persona. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar su consentimiento.*

Fecha	Firma de la persona que obtuvo el consentimiento	Nombre

## 17. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. AOAC Official Method 923.03  
Determination of total ash and organic matter.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. AOAC Official Method 942.15  
Acidity (Titratable) of Fruit Products.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. AOAC Official Method 983.17  
Solids (Soluble) in Citrus Fruit Juices.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. AOAC Official Method 960.52  
Microchemical Determination of Nitrogen.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. AOAC Official Method 991.43  
Total, Soluble, and Insoluble dietary Fibre in Foods.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. AOAC Official Method 981.12  
pH of Acidified Foods.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. AOAC Official Method 920.39  
Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed
- Amri, Z., Ghorbel, A., Turki, M., Akrou, F., Ayadi, F., Elfeki, A., & Hammami, M.  
(2017). Effect of pomegranate extracts on brain antioxidant markers and  
cholinesterase activity in high fat-high fructose diet induced obesity in rat  
model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1–9.  
<https://doi.org/10.1186/s12906-017-1842-9>
- Angeles, M., Goya, L., & Ramos, S. (2017). Protective effects of tea, red wine and  
cocoa in diabetes. *Evidences from human studies*, 109, 302–314.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.09.015>.
- Arroyo, J., Ruez, E., Rodríguez, M., Chumpitaz, V. & Burga, J. (2007). Reducción  
del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo  
crónico de maíz morado (*Zea mays* L) en ratas hipercolesterolémicas IN,  
24(2), 157–162.

- Aw, T. Determinants of intestinal detoxification of lipid hydro- peroxides. *Free Radic. Res.* 28:637–646; 1998.
- Axelrod, C. & Saps, M. (2018). The Role of Fiber in the Treatment of Functional Gastrointestinal Disorders in Children. <https://doi.org/10.3390/nu10111650>
- Azofeifa, G., Quesada, S., Navarro, L., Hidalgo, O., Portet, K., Pérez, A., Michel, A. (2016). Hypoglycaemic, hypolipidaemic and antioxidant effects of blackberry beverage consumption in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Functional Foods*, 26, 330–337. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.007>
- Balisteiro, D., Araujo, R. de, Giacaglia, L. & Genovese, M. (2017). Effect of clarified Brazilian native fruit juices on postprandial glycemia in healthy subjects. *Food Research International*, 100(May), 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.044>
- Beck, A. L., Tschann, J., Butte, N. F., Penilla, C., & Greenspan, L. (2014). Association of beverage consumption with obesity in Mexican American children. *Public Health Nutrition*, 17(2), 338–344. <https://doi.org/10.1017/S1368980012005514>
- Berk, Z. & Berk, Z. (2013). Refrigeration: Chilling and Freezing. *Food Process Engineering and Technology*, 439–460. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415923-5.00019-8>
- Bhardwaj, R. L., & Pandey, S. (2011). Juice blends-a way of utilization of under-utilized fruits, vegetables, and spices: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(6), 563–570. <https://doi.org/10.1080/10408391003710654>
- Boušová, I., Bártíková, H., Matoušková, P., Lněničková, K., Zappe, L., Valentová, K., & Skálová, L. (2015). Cranberry extract-enriched diets increase NAD(P)H: quinone oxidoreductase and catalase activities in obese but not in nonobese mice. *Nutrition Research*, 35(10), 901–909. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2015.08.002>

- Burton-Freeman, T., Park, J., Krishnankutty, E. & Edirisinghe, S.. (2012). Protective activity of processed tomato products on postprandial oxidation and inflammation: A clinical trial in healthy weight men and women. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56, 622-631. DOI 10.1002/mnfr.201100649
- Burton-Freeman, B., Linares, A., Hyson, D. & Kappagoda, T.. (2010). Strawberry modulates ldl oxidation and postprandial lipemia in response to high-fat meal in overweight hyperlipidemic men and women. *Journal of the American College of Nutrition*, 29, 46-54. DOI 10.1080/07315724.2010.10719816
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M., Rodríguez, J., & Galán-Vidal, C. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871
- Castro-López, C., Sánchez-Alejo, E., Saucedo-Pompa, S. & Rojas, R.. (2016). Fluctuations in phenolic content, ascorbic acid and total carotenoids and antioxidant activity of fruit beverages during storage.
- Chew, B., Mathison, B., Kimble, L., McKay, D., Kaspar, K., Khoo, C. & Blumberg, J. (2018). Chronic consumption of a low calorie, high polyphenol cranberry beverage attenuates inflammation and improves glucoregulation and HDL cholesterol in healthy overweight humans: a randomized controlled trial. *European Journal of Nutrition*, 1–13. <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1643-z>
- Chusak, C., Thilavech T., S. Herny C. & Adisakwattana. S. (2018). Acute effect of *Clitoria ternatea* flower beverage on glycemic response and antioxidant capacity in healthy subjects: A randomized crossover trial. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 1-11. DOI 10.1186/s12906-017-2075-7
- Chusak, C., Pasukamonset, P., Chantarasinlapin, P. & Adisakwattana, S. (2020). Postprandial glycemia, insulinemia, and antioxidant status in healthy subjects after ingestion of bread made from anthocyanin-rich riceberry rice. *Nutrients*, 12, 1-14. DOI 10.3390/nu12030782

- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)(2012). <https://www.gob.mx/conabio>
- Cook, S. & Samman, S. (1995). Flavonoids---Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutritional Biochemistry*, 7, 66-76.
- Cömert, E. & Gökmen, V. Antioxidants bound to an insoluble food matrix: Their analysis, regeneration behavior, and physiological importance. *Food Science. Food Safety* 2017, 16, 382–399. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12263>
- Cullmann, M., Hilding, A. & Östenson, C. (2012). Alcohol consumption and risk of pre-diabetes and type 2 diabetes development in a Swedish population. *DIABETIC Medicine*, 29(4), 441-452. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2011.03450.x>
- Das A., Raychaudhuri U. & Chakraborty R. (2012) Cereal based functional food of Indian subcontinent: a review. *J Food Sci Tech Mys*, 2012; 49(6): 665-672. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0474-1>.
- Davinelli, S., Bertoglio, J., Zarrelli, A., Pina, R., & Scapagnini, G. (2015). A Randomized Clinical Trial Evaluating the Efficacy of an Anthocyanin–Maqui Berry Extract (Delphinol®) on Oxidative Stress Biomarkers. *Journal of the American College of Nutrition*, 34(1), 28–33. <https://doi.org/10.1080/07315724.2015.1080108>
- Del Caro, A., Piga, A., Vacca, V., & Agabbio, M. (2004). Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*, 84(1), 99–105. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00180-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00180-8)
- Denova-Gutiérrez, E., Jimenez-Aguilar, A. & Halley-Castillo, E.. (2008). Association between Sweetened Beverage Consumption and Body Mass Index, Proportion of Body Fat and Body Fat Distribution in Mexican Adolescents. *Nutrition & Metabolism*, 53, 245-251.

<https://doi.org/10.1159/000189127>

Dodevska, M., Sobajic, S., & Djordjevic, P. (2015). Effects of total fibre or resistant starch - rich diets within lifestyle intervention in obese prediabetic adults.

<https://doi.org/10.1007/s00394-015-0831-3>

Frecuencia de consumo de bebidas azucaradas. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2016: Evidencia para la política pública en salud. Instituto Nacional de Salud Pública. Disponible en: <http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/ActividadFisica.pdf> (consultado en marzo, 2018).

Fagundes, L., Macedo, L., Macedo, M., Pereira, J., Granato, D., Pereira, L., & Alves, I. (2013). Effect of red wines with different in vitro antioxidant activity on oxidative stress of high-fat diet rats, 137, 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.017>

Fennema, O., Powrie, W.D., Marth, E.H. 235247. (Eds.), Low Temperature Preservation of Foods and Living Matter. Marcel Dekker Inc., New York, NY.

Fotschki, B., Juśkiewicz, J., Kołodziejczyk, K., Jurgoński, A., Kosmala, M., Milala, J. & Zduńczyk, Z. (2018). Protective effects of ellagitannin-rich strawberry extracts on biochemical and metabolic disturbances in rats fed a diet high in fructose. *Nutrients*, 10 (4). <https://doi.org/10.3390/nu10040445>

Gagnière, J. & Bonnet, M. (2017). Molecular Mechanism Underlying the Actions of Antioxidant Molecules in Digestive Disorders. *Gastrointestinal Tissue: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*, 197–216. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805377-5.00014-X>

García-García, J., Reding-Bernal, A., & López-Alvarenga, J. (2013). Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Investigación En Educación Médica*, 2(8), 217–224. [https://doi.org/10.1016/s2007-5057\(13\)72715-7](https://doi.org/10.1016/s2007-5057(13)72715-7)

Gao, R., Wang, Y., Wu, Z., Ming, J., & Zhao, G. (2012). Interaction of Barley  $\beta$  - Glucan and Tea Polyphenols on Glucose Metabolism in Streptozotocin-

Induced Diabetic Rats, 77(6), 128–134. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02688.x>

Gironés-Vilaplana, A., Mena, P., García-Viguera, C., & Moreno, D. (2012). A novel beverage rich in antioxidant phenolics: Maqui berry (*Aristotelia chilensis*) and lemon juice. *LWT - Food Science and Technology*, 47(2), 279–286. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.020>

Giuffrida, M., Ubeda, C., Heredia, F., Catania, A., Assof, M., Fanzone, M. & Jofre, V. (2019). Impact of closure type and storage temperature on chemical and sensory composition of Malbec wines (Mendoza, Argentina) during aging in bottle. *Food Research International*, 125(2). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108553>

Godycki-Cwirko, M., Krol, M., Krol B., Zwolinska, A., Kolodziejczyk, K., Miatkowski, M., Markowski, J. & Nowak, D. (2019). Uric Acid but Not Apple Polyphenols Is Responsible for the Rise of Plasma Antioxidant Activity after Apple Juice Consumption in Healthy Subjects. *Journal of the American College of Nutrition*, 29, 397-406.

González-Amaro, R., Figueroa-Cárdenas, J., Perales, H. & Santiago-Ramos, D.. (2015). Maize races on functional and nutritional quality of tejate: A maize-cacao beverage. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 7.

Gössinger, M., Moritz, S., Hermes, M., Wendelin, S., Scherbichler, H., Halbwirth, H. & Berghofer, E. (2009). Effects of processing parameters on colour stability of strawberry nectar from puree. *Journal of Food Engineering*, 90(2), 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.06.018>

Gouda, M., Moustafa, A., Hussein, L., & Hamza, M. (2016). Three week dietary intervention using apricots, pomegranate juice or/and fermented sour sobya and impact on biomarkers of antioxidative activity, oxidative stress and erythrocytic glutathione transferase activity among adults. *Nutrition Journal*, 15(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0173-x>



- Guillén-Sánchez, J., Mori-Arismendi, S., & Paucar-Menacho, L. (2010). Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) Subnigroviolaceo. *Scientia Agropecuaria*, 5, 211–217. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2014.04.05>
- Guillon, F., Champ, M., Thibault, J.-F., & Saulnier, L. (2011). Functional Foods. *Functional Foods*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Gutiérrez, J. V., & Rodríguez, J. C. G. (2008). Proyecto FZ002: Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México. NUEVO LEÓN INFORME FINAL DE ACTIVIDADES 2007-2008 Preparado para la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Inifap.
- Haddad, E., Gaban-Chong, N., Oda, K., & Sabaté, J. (2014). Effect of a walnut meal on postprandial oxidative stress and antioxidants in healthy individuals. *Nutrition Journal*, 13(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-4>
- Haggard, S., Luna-Vital, D., West, L., Juvik, J., Chatham, L., Paulsmeyer, M., & Gonzalez de Mejia, E. (2018). Comparison of chemical, color stability, and phenolic composition from pericarp of nine colored corn unique varieties in a beverage model. *Food Research International*, 105, 286–297. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.038>
- Harakotr, B., Suriharn, B., Tangwongchai, R., Scott, M. P., & Lertrat, K. (2014). Anthocyanin, phenolics and antioxidant activity changes in purple waxy corn as affected by traditional cooking. *Food Chemistry*, 164, 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.069>
- Ho, Edwin., Karimi, K., Liu, C. & Bhindi, R. (2013). Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biology*, 1, 483-491. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2013.07.006>
- Hollman, P., Cassidy, A., Comte, B., Heinonen, Ma. & Ric, M. (2011). The Biological Relevance of Direct Antioxidant Effects of Polyphenols for

Cardiovascular Health in Humans Is Not Established. The Journal of Nutrition, 12, 989-1009. DOI 10.3945/jn.110.131490.989S

Inglett G. & Chen D. (2011) Antioxidant activity and phenolic content of air-classified corn bran. Cereal Chemistry 88: 36-40. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12263>

Morrow, J. Awad, H. Boss, I. Blair, L. Roberts (1992), Non- cyclooxygenase-derived prostanoids (F2-isoprostanes) are formed in situ on phospholipids. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 89 (2) 10721–10725 [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00167-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00167-2)

Kallithraka, S., Salacha, M. & Tzourou, I. (2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*, 113(2), 500–505. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.083>

Khan, I., Yousif A. Johnson, S. & Shirani, G.. (2015). Acute effect of sorghum flour-containing pasta on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and oxidative stress markers in healthy subjects: A randomised controlled trial. *Clinical Nutrition*, 34, 415-421. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2014.08.005>

Klimczak, I., Małecka, M., Szlachta, M., & Gliszczyńska-Świgło, A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3–4), 313–322. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.02.012>

Knopp, R., Paramsothy, P., Retzlaff, B., Fish, B., Walden C., Dowdy, A., Tsunehara C., Aikawa, K. & Cheung M. . (2006)]. Sex differences in lipoprotein metabolism an dietary response: Basis in hormonal differences and implications for cardiovascular disease. *Current Cardiology Reports*, 8, 452-459. <https://doi.org/10.1007/s11886-006-0104-0>

Kregiel, D. (2015). Health Safety of Soft Drinks: Contents, Containers, and Microorganisms. *BioMed Research. International*, 2015, 128697.

doi:10.1155/2015/128697

- Kris-Etherton, M., Hecker, D., Bonanome, A., Coval, S., Binkoski A., Hllpert, K., Hilpert, K., Griel, A. & Etherton, T. (2002). Bioactive Compounds in Foods: Their Role in the Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. *American Journal of Medicine*, 113, 71-88.
- Lamb, R. & Goldstein, B. (2008). Modulating an oxidative-inflammatory cascade: Potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance, and vascular function. *Int. J. Clin. Pract.* 2008, 62, 1087–1095. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2008.01789.x>
- Lang, G., Lindemann, I., Da, S., Ferreira, C., Hoffmann, J., Vanier, N., & de Oliveira, M. (2019). Effects of drying temperature and long-term storage conditions on black rice phenolic compounds. *Food Chemistry*, 287(7), 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.028>
- Lao, F., & Giusti, M. (2016). Quantification of purple corn (*Zea mays L.*) anthocyanins using spectrophotometric and HPLC approaches: method comparison and correlation. *Food Analytical Methods*, 9(5), 1367-1380. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0318-0>
- Lapointe, A., Couillard, C. & Lemieux, S. (2006), 17, 645-658.
- Li, J., Sung, S., Lee, J., Kim, J., Kang, S., Kim, J., & Kang, Y. (2012). Purple corn anthocyanins dampened high-glucose-induced mesangial fibrosis and inflammation: possible renoprotective role in diabetic nephropathy 23, 320–331. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.12.008>
- López-Contreras, J., Zavala-García, F., Urías-Orona, V., Martínez-Ávila, G., Rojas, R., & Niño-Medina, G. (2015). Chromatic, phenolic and antioxidant properties of Sorghum bicolor genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 43(2), 366–370. <https://doi.org/10.15835/nbha4329949>
- Lopez-Martinez, L., Oliart-Ros, R., Valerio-Alfaro, G., Lee, C., Parkin, K., & Garcia, H. (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and

anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT - Food Science and Technology*, 42(6), 1187–1192.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.10.010>

López-Olmedo, N., Jiménez-aguilar, A., Morales-ruan, M. C., Hernández-ávila, M., Shamah-levy, T., & Rivera-dommarco, J. A. (2018). Consumption of foods and beverages in elementary schools: Results of the implementation of the general guidelines for foods and beverages sales in elementary schools in Mexico, stages II and III, 66(August 2016), 1–6.

Luna-Vital, D., Cortez, R., Ongkowijoyo, P., & Gonzalez de Mejia, E. (2018). Protection of color and chemical degradation of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.) by zinc ions and alginate through chemical interaction in a beverage model. *Food Research International*, 105, 169–177.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.009>

Mahan, L. (2009). Krause: *Dietoterapia*. Barcelona, España: Elsevier

Manthey, F. A., Hareland, G. A., & Huseby, D. J. (1999). Soluble and insoluble dietary fiber content and composition in oat. *Cereal Chemistry*, 76(3), 417–420. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.417>

Martínez-Flores, H., Garnica-Romo, M., Bermúdez-Aguirre, D., Pokhrel, P. & Barbosa-Cánovas, G. (2015). Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food Chemistry*, 172, 650–656.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.072>

McDougall GJ, Shpiro F, Dobson P, Smith P, Blake A, Stewart D. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit alpha-amylase and alpha-glucosidase. *J Agric Food Chem*. 2005;53:2760–6. <https://doi.org/10.1021/jf0489926>

Meneses-Leon, J., Denova-Gutiérrez, E., Castañón-Robles, S., Granados-García, V., Talavera, J., Rivera-Paredes, B., Salmerón, J. (2014). Sweetened beverage consumption and the risk of hyperuricemia in Mexican adults: A

- cross-sectional study. *BMC Public Health*, 14(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-445>
- Mgaya-Kilima, B., Remberg, S., Chove, B. & Wicklund, T. (2014). Influence of storage temperature and time on the physicochemical and bioactive properties of roselle-fruit juice blends in plastic bottle. *Food Science & Nutrition*, 2(2), 181–191. <https://doi.org/10.1002/fsn3.97>
- Miranda, A, Carioca, A., Steluti, J., Silva, I., Fisberg, R. & Marchioni, D. (2017). The effect of coffee intake on lysophosphatidylcholines: A targeted metabolomic approach. *Clinical Nutrition*, 36(6), 1635–1641. <https://doi.org/10.1016/J.CLNU.2016.10.012>
- Moreno, Y., Hernandez, R., Velazquez A. (2005) Extraction and use of pigments from maize grains (*Zea mays L.*) as colorants in yogurt. *Arch Latinoamerican Nutrition* 55:293–298.
- Narpinder, S., Amritpal, K., & Khetan, S. (2014). Maize: Grain Structure, Composition, Milling, and Starch Characteristics. *Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses*, 9788132216, 1–161. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1623-0>
- Natella, F., Nardini, M., Belelli, F., & Scaccini, C. (2007). Coffee drinking induces incorporation of phenolic acids into LDL and increases the resistance of LDL to ex vivo oxidation in humans. *Am J Clin Nutr.* 604–609. <https://10.1093/ajcn/86.3.604>
- Niño-Medina, G., Urías-Orona, V., Muy-Rangel, M., & Heredia, J. (2017). South African Journal of Botany Structure and content of phenolics in eggplant (*Solanum melongena*) - a review, 111, 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.016>
- Noratto, G., Chew, B. & Atienza, L.. (2016). Red raspberry (*Rubus idaeus L.*) intake decreases oxidative stress in obese diabetic (db/db) mice. *Food Chemistry*, 227, 305-314. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.097>

Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria.

NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

Olivas-Gastélum, R., Nevárez-Moorillón, G., & Gastélum-Franco, M. (2009). Las pruebas de diferencia en el análisis sensorial de los alimentos. *Tecnociencia Chihuahua*, 3(1), 1-7.

Ademowo, O., Dias, H., Milic, I., Devitt, A., Moran, R., Mulcahy, R., Howard, A., Nolan, J. & Griffiths, H. (2017). Phospholipid oxidation and carotenoid supplementation in Alzheimer's disease patients, *Free Radical Biology and Medicine*. 108. 77-85 <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.03.008>.

Pala, D., Barbosa, P., Silva, C., Oliveira, M., Rodrigues, F., Pinheiro, M., Cavalcante, F., & Nascimento, R. (2018). *Açaí* (*Euterpe oleracea* Mart.) dietary intake affects plasma lipids, apolipoproteins, cholesteryl ester transfer to high-density lipoprotein and redox metabolism: A prospective study in women. *Clinical Nutrition*. 2018, 618-623.

Paredes, P., Alemán, S., Castillo, O., & Perales, A. (2015). Consumo De Bebidas Azucaradas Y Su Relación Con Enfermedades Crónicas No Transmisibles En Niños Relationship Between Sweetened Beverages Consumption and Chronic Non-Communicable Diseases in Children, 55–61. <http://biotecnia.ojs.escire.net>

Prasanthi, P., Naveena, N., Vishnuvardhana, M., & Bhaskarachary, K. (2017). Compositional variability of nutrients and phytochemicals in corn after processing. *Journal of Food Science and Technology*, 54(5), 1080–1090. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2547-2>

Rapisarda, P., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Bonina, F., De Pasquale, A., & Saija, A. (1999). Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of

fresh orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11), 4718–4723. <https://doi.org/10.1021/jf990111l>

- Rehman, M., Khan, M., Sharif, M., Ahmad, S. & Shah, F. (2014). Study on the storage stability of fruit juice concentrates. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 24(1s), 101–107.
- Renuka, B., Kulkarni, S., Vijayanand, P. & Prapulla, S.. (2009). Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages: Effect on the quality characteristics. *Food Science and Technology*, 42, 1031-1033. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2008.11.004>
- Reverri, E., Randolph J., Tissa, C., Steinber, F., Edirisinghe, I. & Burton-Freeman, B.. (2015). Black beans, fiber, and antioxidant capacity pilot study: Examination of whole foods vs. functional components on postprandial metabolic, oxidative stress, and inflammation in adults with metabolic syndrome. *Nutrients*, 7, 6130-6154. <http://doi.org/doi: 10.3390/nu7085273>.
- Riaz, M., Zia-Ul-Haq, M., & Saad, B. (2016). Springer briefs in food, Health and Nutrition Anthocyanins and Human Health: *Biomolecular and therapeutic aspects*. <https://doi.org/10.1007/s10803-015-2603-6>
- Rivera-Paredes, B., Muñoz-Aguirre, P., Torres-Ibarra, L., Ramírez, P., Hernández-López, R., Barrios, E., Salmerón, J. (2018). Patterns of beverage consumption and risk of CHD among Mexican adults. *British Journal of Nutrition*, 120(2), 210–219. <https://doi.org/10.1017/s0007114518001411>
- Rodríguez-Salinas, P., Muy-Rangel, D., Urías-Orona, V., Zavala-García, F., Suárez-Jacobo, Á., Heredia, J. B., ... Niño-Medina, G. (2019). Thermal processing effects on the microbiological, physicochemical, mineral, and nutraceutical properties of a roasted purple maize beverage. *Farmacia*, 67(4), 587–595. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2019.4.5>
- Rondini, L., Peyrat-Maillar, M., Marsett-Baglieri, A., Fromentin, G., Durand, P., Tomé, D., Prost, M. & Berset, C.. (2004). Bound Ferulic Acid from Bran Is

More Bioavailable than the Free Compound in Rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 52, 4338-4343.

Romo, A., Aguilar, C., Gómez, R., Brito, G., Gómez, D., López, M., & Almeda-Valdés, P. (2017). Non-nutritive sweeteners: Evidence on their association with metabolic diseases and potential effects on glucose metabolism and appetite. *Revista de Investigacion Clinica*, 69(3), 129–138. <https://doi.org/10.24875/RIC.17002141>

Santos, J., Oliveira, M. B. P. P., & Herrero, M. (2014). Phenolic profile evolution of different ready-to-eat baby-leaf vegetables during storage &. *Journal of Chromatography A*, 1327, 118–131. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.12.085>

Singh, D., Singh, R., & Farhaan, B. (2014). Development , Quality Evaluation and Shelf Life Studies of Whey Guava Beverage. *International Journal of Current Engineering and Technology*, 4(3), 2171–2175. Retrieved from <http://inpressco.com/category/ijcet>

Song, Y., Mansons, J., Buring, J., Sesso, H., & Liu, S. (2013). Associations of Dietary Flavonoids with Risk of Type 2 Diabetes, and Markers of Insulin Resistance and Systemic Inflammation in Women: A Prospective Study and Cross-Sectional Analysis. *Journal of the American College of Nutrition*, 24(5), 375–384. <https://doi.org/10.1080/07315724.2005.10719488>

Spencer, J. & Abd-el-Mohsen, M. (2004). Cellular uptake and metabolism of flavonoids and their metabolites: implications for their bioactivity. *Arch Biochem Biophys* 423(1): 148-61. <http://doi.org/10.1016/j.abb.2003.11.010>.

Stern, D., Middaugh, N., Rice, M., Laden, F., López-Ridaura, R., Rosner, B. & Lajous, M. (2017). Changes in sugar-sweetened soda consumption, weight, and waist circumference: 2-year cohort of Mexican women. *American Journal of Public Health*, 107(11), 1801–1808. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2017.304008>

Sui, X., Bary, S., & Zhou, W. (2016). Changes in the color, chemical stability and



- antioxidant capacity of thermally treated anthocyanin aqueous solution over storage. *Food Chemistry*, 192, 516–524.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.021>
- Sun, G. (2017). Blast Disease. <https://doi.org/10.3390/molecules22101799>
- Taylor, P., Balentine, D., Wiseman, S., Bouwens, L., Balentine, D., Wiseman, S. & Bouwens, L. (2009). Critical Reviews in Food Science and Nutrition. The chemistry of tea flavonoids, (June 2012), 37–41.  
<https://doi.org/10.1080/10408399709527797>
- Thompson, S., Hannon, B., An, R., & Holscher, H. (2017). Effects of isolated soluble fiber supplementation on body weight, glycemia, and insulinemia in adults with overweight and obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. <https://doi.org/10.3945/ajcn.117.163246>
- Torabian, S., Haddad, E., Rajaram, S., Banta, J. & Sabaté J. (2009). Acute effect of nut consumption on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and lipid peroxidation. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 22, 64-71.
- United States Department of Agriculture, (2018), USDA Food Composition Databases. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>
- Urias-Orona V., Heredia JB., Muy-Rangel D., Niño-Medina G.. Año Ácidos fenólicos con actividad antioxidante en salvado de maíz y salvado de trigo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 2016; 3(7), 43-50.
- Valduga, A., Gonçalves, I., Magri, E., & Finzer, J. (2018). Chemistry, pharmacology and new trends in traditional functional and medicinal beverages. *Food Research International*.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.091>
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2007). Phenolic compound biochemistry. *Springer Science & Business Media*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7>
- Vetrani, C., Vitale, M., Bozzetto, L., Della Pepa, G., Coccozza, S., Costabile, G.,

- Rivellese, A. (2018). Association between different dietary polyphenol subclasses and the improvement in cardiometabolic risk factors: evidence from a randomized controlled clinical trial. *Acta Diabetológica*, 55(2), 149–153. <https://doi.org/10.1007/s00592-017-1075-x>
- Vinson JA, Su X, Zubik L, Bose P. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *J Agric Food Chem*. 2001;49(11):5315-5321. doi:10.1021/jf0009293
- Wiswedel, I., Hirsch, D., Kropf, S., Gruening, M., Pfister, E., Schewe, T. & Sies, H. (2004). Flavanol-rich cocoa drink lowers plasma F2-isoprostane concentrations in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 37, 411-421. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.05.013>.
- Wu, X., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S. & Prior, R. (2004) Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J. Agric. Food. Chem*. 52, 4026–4037.
- Xu, X., Wang, H. J., Murphy, P. A., Cook, L. & Hendrich, S. (1994) Daidzein is a more bioavailable soymilk isoflavone than is genistein in adult women. *J. Nutr*. 124: 825–832.
- Yang, Y., Wang, J., Xing, Z., Dai, Y., & Chen, M. (2011). Identification of phenolics in Chinese toon and analysis of their content changes during storage. *Food Chemistry*, 128(4), 831–838. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.071>
- Yu, G. J. (2008). The enzymatic browning mechanism of fruits and its restraint ways. *Dandong Medical*, 3, 34–37.
- Yu, J., & Temelli, F. (2001). Analysis of phenolic acids in barley by high–performance–liquid–chromatography. *J. Agric. Food Chem*. 49: 4352–4358. <https://doi.org/10.1021/jf0013407>
- Zilio, A., Zielinsky, P., Vian, I., Lampert, K., Raupp, D., Weschenfelder, C., Markoski, M. (2018). Polyphenol supplementation inhibits physiological increase of prostaglandin E2 during reproductive period – A randomized

clinical trial. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 136, (77–83. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2017.04.001>

Zou, B., Xu. Y., Wu, J., Yu, Y. & Xiao, G. (2017). Phenolic compounds participating in mulberry juice sediment formation during storage. *Biomed & Biotechnol*, 10, 854-856.